



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA**

**PADRÃO HISTO-ANATÔMICO, DEGRADABILIDADE E
COMPOSTOS SECUNDÁRIOS EM ACESSOS DE MANIÇOBA**

KLEITIANE BALDUINO DA SILVA

**AREIA-PB
FEVEREIRO-2016**

KLEITIANE BALDUINO DA SILVA

**PADRÃO HISTO-ANATÔMICO, DEGRADABILIDADE E
COMPOSTOS SECUNDÁRIOS EM ACESSOS DE MANIÇOBA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, da Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Zootecnia.

Comitê de Orientação:

Profº. Dr. Divan Soares da Silva - Orientador

Profº. Dr. Albericio Pereira de Andrade - Co-orientador

Profº. Dr. Mailson Monteiro do Rêgo - Co-orientador

**AREIA- PB
FEVEREIRO-2016**

*Ficha Catalográfica Elaborada na Seção de Processos Técnicos da
Biblioteca Setorial do CCA, UFPB, campus II, Areia – PB*

S586p Silva, Kleitiane Balduino da.

*Padrão histo-anatômico, degradabilidade e compostos
secundários em acessos de maniçoba / Kleitiane Balduino da Silva. –
Areia - PB: CCA/UFPB, 2016.*

vi, 54 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Centro de Ciências Agrárias.
Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2016.

Bibliografia.

Orientador: Divan Soares da Silva.

1- Maniçoba – Degradabilidade 2. Plantas forrageiras – Metabólitos 3.
Manihot – Estádios de maturação I. Silva, Divan Soares da (Orientador) II.
Título.

UFPB/BSAR

CDU: 633.912.7(043.3)



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

PARECER DE DEFESA DO TRABALHO DE DISSERTAÇÃO

TÍTULO: “Padrão histo-anatômico, degradabilidade e compostos secundários em acessos de Maniçoba”

AUTORA: Kleitiane Balduino da Silva

ORIENTADOR: Prof. Dr. Divan Soares da Silva

J U L G A M E N T O

CONCEITO: APROVADA

EXAMINADORES:

Prof. Dr. Divan Soares da Silva
Presidente
Universidade Federal da Paraíba

Profa. Dra. Maria do Socorro de Caldas Pinto
Examinadora
Universidade Estadual da Paraíba

Profa. Dra. Aline Mendes Ribeiro
Examinadora
Universidade Federal da Paraíba

Areia, 26 de fevereiro de 2016

DEDICATÓRIA

A Minha Família, razão pela qual enfrento todas as dificuldades, vocês são tudo para mim, minha força, meu refúgio, minha fortaleza.

Minha mãe Glória, Meu pai Vicente
Minha Irmã, Aline
Minha sobrinha, Maria Júlia.

Agradeço a Deus todos os dias por ter vocês e por sermos realmente uma família.

AMO VOCÊS!

A vocês dedico todo o meu esforço!

AGRADECIMENTOS

A Deus, razão da minha vida, quem me dá forças para lutar, ultrapassar obstáculos e superar todas as dificuldades que encontro e ainda encontrarei;

A minha família pela paciência, dedicação e incentivo, minha mãe Glória, meu Pai Vicente, minha irmã Aline;

A Dona Elieze, pela grande amizade que construímos, pelo apoio, por sempre me incentivar nos momentos difíceis, me mostrando que todo esforço será recompensado;

A Universidade Federal da Paraíba, ao programa de Pós-Graduação em Zootecnia pela oportunidade a mim concedida;

A CAPES, pela concessão da bolsa, contribuindo para a realização da pesquisa;

Ao meu orientador Professor Divan Soares da Silva, pela paciência, pelo apoio, confiança e ensinamentos. Os 4 anos que tive o prazer de estar em sua orientação foram fundamentais para minha formação acadêmica. Ao Sr. meu muito obrigada!

Ao Professor Mailson Monteiro do Rêgo, pelos ensinamentos, pela paciência, incentivo e contribuição para a construção dessa pesquisa;

Ao Professor Albericio Pereira de Andrade, pela amizade, e contribuição para a construção desse trabalho;

Ao Professor Ariosvaldo Nunes de Medeiros, pela enorme colaboração;

A professora Dr.^a Fátima Vanderlei, pela atenção, sua ajuda foi primordial;

A banca examinadora, Professora Maria do Socorro e a Professora Aline Mendes, pela disponibilidade e contribuição na pesquisa.

Ao Laboratório de produtos de origem Animal (LAPOA), que gentilmente cedeu o espaço para o desenvolvimento das minhas análises, a Alessandra que me ajudou sem medir esforços.

Ao laboratório de Biotecnologia Vegetal (Biomassa), a Fernanda, Wilca, Joelson e Priscila;

Ao Laboratório de Histologia Animal, ao Professor Ricardo Guerra e seus alunos de PIBIC, Eudes e Marcos;

Ao Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, ao Técnico seu Nonato que gentilmente contribui nessa pesquisa;

Aos funcionários do (PPGZ), Graça, Dona Carmen e Seu Damião por todos os serviços prestados;

À Janieire, a quem dedico parte do meu sucesso, que esteve ao meu lado nos momentos mais árduos. Sempre presente e disposta a ajudar. Palavras não seriam suficientes para demonstrar tamanho carinho e gratidão;

As minhas companheiras de República, afinal formamos uma família: Glória, Priscila Nobre, Vanessa, Jailma, Aparecida, Ana Jessica, Priscila Carvalho, Leandra e Fátima;

As minhas amigas, Ana Jaqueline e Cintya Ionara, pela atenção e incentivo;
A equipe Lavoura Xerófilas, Janieire, Marilania, Ribamar, Daniely Sales e Vanderleia, muito obrigado pela ajuda de vocês.

Vocês foram grandes contribuidores para a construção desse trabalho sem vocês não teria conseguido;

A todos o meu eterno agradecimento,

Muito Obrigada!

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	ii
LISTA DE TABELAS.....	iii
RESUMO.....	v
ABSTRACT	vi
1 INTRODUÇÃO.....	6
2 REVISÃO DE LITERATURA	8
2.1 Anatomia das plantas forrageiras.....	9
2.2 Metabólitos secundários.....	12
2.3 Classes dos metabolitos	13
2.4 Compostos nitrogenados.....	14
Glicosídeos Cianogênicos	14
Alcaloides.....	15
2.5 Compostos fenólicos.....	16
Flavonoides	16
Lignina	17
Tanino.....	18
2.6 Terpenos.....	19
Saponinas	20
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	22
3.1 Localização e Caracterização da Área de Estudo	22
3.2 Avaliação histo-anatômica e degradabilidade dos tecidos.....	22
3.3 Análise dos Metabólitos Secundários	24
Alcaloides.....	25
Esteroides	25
Saponinas	25
Flavonoides	25
Taninos.....	26
3.4 Análise estatística.....	26
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	27
4.1 Anatômia da lâmina foliar e pecíolos de <i>Manihot</i> spp.	27
4.2 Degradabilidade dos tecidos de <i>Manihot</i> spp. em diferentes estádios de maturação	32
4.3 Metabólitos Secundários.....	36
5 CONCLUSÕES	39
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Rota Metabólica Vegetal..... Erro! Indicador não def	12
Figura 2. Principais vias do metabolismo secundário e suas interligações	14
Figura 3. Secções transversais das lâminas foliares de maniçoba, Jovem (A), Madura (B) e Senescente (C). Detalhe da epiderme adaxial (Epad), epiderme abaxial (Epab), parênquima paliçádico (PP), parênquima lacunoso (PL), xilema (Xi), floema (Fl), esclerênquima (Es), colênquima (Co) e espaços inter-celulares (EI). Coradas com azul de toluidina. Barras: A-F= 100 µm.....	27
Figura 4. Secções transversais dos pecíolos de maniçoba, Jovem (A), Maduro (B) e Senescente (C). Detalhe da epiderme (Ep), Colênquima (Co), bainha esclerenquimática (BE), floema (Fl), xilema (Xi) e Mesófilo (Me). Corados com azul de toluidina. Barras: A-F=100 µm.	28
Figura 5. Secções transversais das lâminas foliares de maniçoba, Jovem (A), Maduro (B), e Senescente (C). Detalhe da degradabilidade da epiderme (Ep), colênquima (Co) e xilema (Xi). Corados com azul de toluidina. Barras: A-C = 100 µm.....	32
Figura 6. Secções transversais dos pecíolos de maniçoba, Jovem (A), Maduro (B), e Senescente (C). Detalhe da degradabilidade da epiderme (Ep), bainha esclerenquimática (BE) e xilema (Xi). Corados com azul de toluidina. Barras: A-C= 100 µm.	33
Figura 7. Dendrograma da análise de agrupamento obtido pelo método Ward em três acessos de maniçoba (<i>Manihot</i> spp.) conforme o coeficientes de similaridade de Jaccard. Valores do “bootstrap” em percentagem para 100 repetições.....	38

LISTA DE TABELAS

Página

Tabela 1- Proporção (%) dos tecidos de maniçoba em diferentes estádios de maturação da lâmina foliar.....	29
Tabela 2- Proporção (%) dos tecidos de pecíolo de maniçoba em diferentes acessos e estádios de maturação.....	30
Tabela 3 - Degradabilidade dos tecidos de maniçoba em diferentes estádios de maturação da lâmina foliar.	31
Tabela 4 - Degradabilidade dos tecidos de maniçoba em diferentes estádios de maturação do pecíolo.....	33
Tabela 5 - Perfil fitoquímico de extrato bruto etanólico de folhas dos acessos de maniçoba (<i>Manihot</i> spp.) em diferentes estádios de maturação.....	35

LISTA DE ABREVIATURAS

AC004J	Acesso 04 Jovem
AC004M	Acesso 04 Maduro
AC004S	Acesso 04 senescente
AC002J	Acesso 02 Jovem
AC002M	Acesso 02 Maduro
AC002S	Acesso 02 Senescente
AC038J	Acesso 38 Jovem
AC038M	Acesso 38 Maduro
AC038S	Acesso 38 Senescente

RESUMO

SILVA, K. B. **Padrão histo-anatômico, degradabilidade e compostos secundários em acessos de maniçoba**. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. UFPB. Areia-PB. Orientador: Prof^o. Dr. Divan Soares da Silva.

O conhecimento das características anatômicas, degradabilidade ruminal e metabólitos secundários das plantas forrageiras ajudam a esclarecer diferenças observadas na digestibilidade, principalmente em espécies originárias de ambientes de condições climáticas extremas, como é o caso das plantas da Caatinga, as quais podem conter estruturas e diferentes compostos químicos que limitam a sua digestibilidade, comprometendo dessa maneira o seu valor nutritivo. Objetivou-se com este trabalho caracterizar o padrão anatômico, degradabilidade e determinar os compostos secundários em três acessos de maniçoba nos diferentes estádios de maturação da folha (jovem, madura e senescente). O material vegetal foi colhido, de três acessos de maniçoba (*Manihot* spp.), das cidades de Barra de Santa Rosa, Boa Vista e Monteiro, pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da Universidade Federal da Paraíba - Campus II. A coleta foi realizada de maio de 2014 a abril de 2015, onde foram selecionadas três plantas de cada acesso, das quais colheu-se folhas e pecíolos para caracterização histo-anatômica e degradabilidade ruminal através da confecção de lâminas histológicas permanentes. Após preparo das mesmas, procedeu-se a avaliação e quantificação dos tecidos. Foram medidas a área total ocupada pelos tecidos e a proporção (%) da epiderme (EPI), esclerênquima (ESC), xilema mais fibras associadas (XIL) floema (FLO), mesófilo (MES) e, quando presente, colênquima. A degradabilidade foi dada pela diferença entre a proporção de tecido antes e após incubação ruminal por 48 horas. Através do screening fitoquímico identificou-se os metabólitos secundários presentes nos acessos de maniçoba. Identificou-se que as lâminas foliares dos três acessos apresentaram proporções semelhantes para as características anatômicas. Nos pecíolos ocorreram variações das proporções dos acessos e estádios de maturação. O estádio senescente apresentou maiores proporções para alguns de seus tecidos tanto nas lâminas foliares como nos pecíolos. Os acessos 02 e 04 por apresentarem maiores proporções de xilema, diminuiu sua digestibilidade. Com base nos resultados, o avanço da maturação fisiológica dos tecidos nas folhas e pecíolos de acessos de maniçoba, proporciona redução na degradabilidade. O acesso 38 apresenta maior digestibilidade por apresentar maior proporção de mesófilo. A presença e concentração dos metabólitos secundários é variável entre os acessos e estádios de maturação.

Palavras-chaves: Caatinga, Compostos Fenólicos, Epiderme, Planta Nativa

ABSTRACT

SILVA, K. B. histo-anatomical pattern, degradability and secondary compounds in maniçoba accesses. Dissertação (Mestrado em Zootecnia). Programa de Pós-Graduação em Zootecnia. UFPB. Areia-PB. Orientador: Profº. Dr. Divan Soares da Silva.

Anatomical characteristics knowledge, ruminal degradability and forage plants secondary metabolites help to clarify differences in digestibility, especially in species from extreme weather environments, as is the case of Caatinga plants, which may contain structures and different chemicals compounds which limit their digestibility, thus restricting their nutritional value. This study objective was to characterize the anatomical pattern, degradability and determine the secondary compounds in three maniçoba access at different sheet maturation stages (young, mature and senescent). The plant material was collected from three maniçoba access (Manihot spp.), Barra de Santa Rosa city, Boa Vista city and Monteiro city, from the Federal University of Paraíba - Campus II, Active Germplasm Bank (BAG). The data collect was conducted from May 2014 to April 2015, which were selected from each access three plants, which were harvested leaves and petioles for histo-anatomical characterization and degradability by making permanent histological slides. After preparing the same, we proceeded to the evaluation and tissue quantification. Their total area available by the tissue and the epidermis ratio (%) (EPI), sclerenchyma (ESC), xylem more associated fibers (XYL) phloem (FLO), mesophyll (MES) and, when present, chollenchyma. The degradability was given by the difference between the fabric proportion before and after 48 hours ruminal incubation. Through phytochemical screening was identified secondary metabolites present in maniçoba access. It was found that the three access leaf blades had similar proportions to the anatomical features. On petioles occurred proportion variations from access and maturation stages. The stage senescent showed higher proportions for some of their tissues both in leaf blades and petioles. Accesses 02 e 04, because they have higher xylem ratios, decreasing their digestibility. Based on the results, the physiological maturation progress of maniçoba access tissue in the leaves and petioles, provides degradability reduction. Based on the results, the physiological maturation progress of maniçoba access tissue in the leaves and petioles, provides degradability reduction. The 38 th access had a higher digestibility due to a higher mesophyll proportion. The secondary metabolites presence and concentration is variable between accessions and maturation stages.

Keywords: Caatinga, Phenolic Compounds, Epidermis, Native Plant

1 INTRODUÇÃO

No Brasil o Semiárido abrange uma área territorial de aproximadamente um milhão de km², possui clima quente e seco, com duas épocas, a seca e a chuvosa e temperatura média dos 28°C, a concentração de chuvas ocorre de três a quatro meses durante o ano, ocasionando um balanço hídrico negativo na maior parte dos meses (ARAÚJO FILHO et al., 1995).

Grande parte do território brasileiro é coberta pela vegetação denominada Caatinga, único bioma exclusivamente brasileiro, a qual é rica em biodiversidade, inclusive, espécies endêmicas. A caatinga possui abundância de cactáceas, árvores de porte baixo e arbustos, que predominantemente perdem as folhas no período seco, caracterizando-as como espécies caducifólias (SNIF, 2015). Devido seu potencial forrageiro e por possuir abundância e serem resistentes à seca, tais espécies vegetais são bastante utilizadas para alimentação animal, sendo quase que exclusivamente a única fonte de recurso alimentar para a maioria dos rebanhos da região semiárida nordestina (ARAÚJO FILHO et al., 1993), principalmente durante o período seco do ano, o que afeta significativamente a produtividade dos rebanhos (MOREIRA FILHO et al., 2008).

Nesta perspectiva, uma das espécies encontradas nas diversas áreas que compõem o semiárido nordestino e que se destaca por apresentar uma boa alternativa forrageira para a produção animal é a maniçoba (*Manihot* spp.). Assim como a mandioca, a maniçoba por ser do mesmo gênero é classificada como uma espécie heliófila, perene, arbustiva, pertencente à família *Euphorbiaceae* (LORENZI, 2003). Esta forrageira apresenta alta palatabilidade, tanto verde como fenada, com alto valor nutritivo dentre as plantas nativas. Embora seja bem estabelecida na região, devido sua toxicidade quando os animais a consomem verde, alguns produtores substituem as áreas ocupadas pela maniçoba com o cultivo de outras espécies (NASSAR, 2000).

Assim como as demais espécies do gênero *Manihot*, a maniçoba (*Manihot* spp.) faz parte do grupo de plantas que possuem como principal característica a presença de composto secundário glicosídeos cianogênicos, cuja formação se dá através da hidrólise química ou mediante a ação das principais substâncias cianogênicas como a linamarina e lotaustralina, que em presença de água, entram em contato com a enzima linamarase, dando origem ao ácido cianídrico (HCN) (CASTRO, 2004).

A avaliação do valor nutritivo, tanto da maniçoba como das demais forrageiras, através dos estudos anatômicos permite uma melhor comparação entre espécies e

cultivares, que por meio da quantificação das estruturas anatômicas pode-se observar o arranjo e a proporção de tecidos digestíveis e indigestíveis, bem como o acompanhamento do envelhecimento desses tecidos com o desenvolvimento da planta (MENDONÇA, 2010).

Deste modo, a organização da estrutura dos órgãos da planta influencia no consumo das diferentes espécies forrageiras, pela facilidade com que as partículas são fragmentadas, a natureza das partículas produzidas e consequentemente a taxa de passagem pelo rúmen (WILSON, 1993).

Por outro lado, sabe-se que em certas condições ambientais como precipitação pluvial, temperatura e fertilidade do solo, algumas plantas são capazes de produzir diferentes variedades de compostos secundários, com várias funções como: defesa contra bactérias, fungos, vírus, estresse ambiental e ataque de herbívoros, proporcionando à planta características como gosto amargo, odor repulsivo além de provocar intoxicações ou efeitos antinutricionais nos predadores (BEELEN et al., 2008; REIS et al., 2006; TAIZ e ZEIGER, 2009).

Objetivou-se com este trabalho caracterizar o padrão histo-anatômico, degradabilidade e determinar os compostos secundários em três acessos de maniçoba nos diferentes estádios de maturação (jovem, madura e senescente).

2 REVISÃO DE LITERATURA

O semiárido nordestino tem como principal característica a ocorrência de chuvas irregulares, variando consideravelmente entre os anos (BALME et al., 2006), o que dificulta a produção de forragem (LIMA, 1996). Desta forma, faz-se necessário a busca de alternativas alimentares para suprir o déficit forrageiro durante o período de escassez.

O bioma Caatinga apresenta vegetação xerófila, abrangendo seus estratos, herbáceo, arbustivo e arbóreo, de fisionomia e flora variada, sendo, geralmente, caducifólias e composta por diversas espécies de cactáceas. As famílias mais frequentes são *Euphorbiaceae*, *Fabaceae* e *Cactaceae* (DRUMOND, 2000).

Das diversas espécies presentes na caatinga que pode ser explorada como forragem, destaca-se a maniçoba (*Manihot* spp). Seu centro de origem é no Brasil, mais especificamente no Bioma da Caatinga, sua localização abrange quase todo semiárido do Nordeste (BELTRÃO et al., 2006). Deste modo, existe grande variedade de espécies do gênero *Manihot* distribuída em todo o semiárido brasileiro (NASSAR, 2000), sendo as principais maniçoba-do-ceará (*Manihot glaziovii* Muell. Arg.), maniçoba-do-piauí (*M. piauhyensis* Ule.) e maniçoba-da-bahia (*M. dichotoma* Ule e *M. caerulescens* Pohl) (ARAÚJO et al., 2004).

Dentre as características oriundas desta espécie, podem-se destacar as qualidades desejáveis para os animais que a consomem, a preservação das áreas ocupadas pelas mesmas, assim como, possibilidade de aumentar a oferta de forragem durante o período de carência de alimentos (BELTRÃO et al., 2006). Sua particularidade para que se adapte nessa região é devido o sistema radicular ser bastante desenvolvido, possuindo a capacidade de acumular as suas reservas sólidas e água, sendo considerada uma das primeiras espécies a desenvolver sua folhagem após o início do período chuvoso (CASTRO, 2004).

Assim como as demais espécies do gênero *Manihot*, a maniçoba possui características nutritivas interessantes, geralmente é utilizada na forma verde para a alimentação dos animais que pastejam livremente na Caatinga, por esta razão, deve haver restrição ao seu uso sob esta forma, pela capacidade desta espécie apresentar consideráveis teores de glicosídeos cianogênicos, podendo causar intoxicação nestes animais (MEDINA, 2005). Os glicosídeos cianogênicos tornam-se facilmente voláteis no processo de ensilagem e/ou fenação, assim estas são as melhores formas de utilização da maniçoba (GUIM et al., 2004).

2.1 Anatomia das plantas forrageiras

As plantas são constituídas por raiz, caule/colmo, folhas, bainha/pecíolo, flores e frutos, tais estruturas são formadas por conjuntos de células que formam os diferentes tecidos, que estão diretamente relacionados com a estrutura na planta (AKIN, 1982; CARVALHO e PIRES, 2008).

Van Soest (1994) separa os componentes químicos das plantas forrageiras em constituintes da parede celular e do conteúdo celular, os quais apresentam concentração variável em função dos diferentes órgãos e tecidos que os constituem.

No conteúdo celular estão presentes proteínas, gordura, carboidratos solúveis e outros compostos solúveis em água, enquanto que a parede celular é constituída, na maior parte, por celulose e hemicelulose e, substâncias como a lignina e pectina (SILVA, 1981; VAN SOEST, 1994).

A parede celular vegetal se divide em primária, secundária e terciária, com espessura variáveis entre si. A parede primária é formada por microfibrilas de celulose, possui espessura de 0,1 a 0,2 μm . A parede secundária, constituindo-se por três camadas, as quais apresentam microfibrilas de celulose com espessura que varia de 1 a 3 μm e, por fim, a parede terciária que apresenta-se como uma camada membranosa extremamente delgada (WILSON, 1993; GLÓRIA e GUERREIRO, 2006).

As células quando agrupadas, segundo sua função, constituem os sistemas dérmico (epiderme), vascular (floema e xilema) e fundamental (esclerênquima, colênquima, mesófilo) (ESAU, 2000; LEMPP e MORAIS, 2005).

A epiderme recobre a superfície dos vegetais em toda a sua extensão, que, por sua vez, é revestida pela cutícula. A parede das células epidérmicas, em vista frontal, apresenta-se organizadas de forma compacta, com contornos retos ou sinuosos, protegendo a planta contra danos mecânicos, patógenos e perda excessiva de água (GLÓRIA e GUERREIRO, 2006). Com o avanço da maturidade fisiológica da planta, ocorre incremento da espessura das células epidérmicas (CARVALHO e PIRES, 2008), o aumento em espessura dificulta a digestibilidade por aumentar o tempo de degradação da parede celular pelos microrganismos ruminais.

O parênquima está distribuído em quase todos os órgãos da planta e estão relacionados com o processo fotossintético, armazenamento de substâncias e cicatrização, sendo a parede celular primária a única a se desenvolver nesse tecido (ESAU, 2000; PACIULLO, 2002). O colênquima também pode estar presente em todos os órgãos da planta, sendo pouco comum em raízes. São células com paredes

resistentes, espessas, lignificadas nos órgãos vegetais maduros, tendo como função dar sustentação a planta (ESAU, 2000). As células esclerenquimáticas apresentam paredes secundárias espessadas, sendo esse espessamento homogêneo e regular, comumente lignificadas com a maturidade fisiológica (GLÓRIA e GUERREIRO, 2006).

O sistema vascular é responsável pelo transporte de nutrientes constituído de floema e xilema. O floema é o tecido responsável pela condução de nutrientes orgânicos, e suas células apresentam paredes delgadas e de fácil digestão. O xilema conduz água e nutrientes inorgânicos e as células que o constitui possuem paredes espessas e lignificadas, nas folhas e nos caules, portanto são consideradas indigestíveis tanto nas gramíneas quanto nas leguminosas (ESAU, 2000; CARVALHO e PIRES, 2008; PACCIULLO, 2000).

A bainha do feixe vascular, como o próprio nome diz é um conjunto de células localizadas em torno do referido feixe. Esse tecido, em plantas de metabolismo C₄, é bem desenvolvido, com células de parede espessada e com grande quantidade de cloroplastos. Enquanto que nas plantas C₃ as células da bainha são pouco desenvolvidas e os cloroplastos são ausentes (CARVALHO e PIRES, 2008).

Substâncias como ceras, sílica e taninos também fazem parte da constituição da parede celular das plantas forrageiras. Geralmente, são encontradas em pequenas quantidades, contudo, tais componentes possuem atributos físicos e químicos que afetam, significativamente, a utilização dos componentes da parede e do conteúdo celular por limitar o acesso dos microrganismos ruminais à parede das células vegetais (VAN SOEST, 1994).

Diante das características dos tecidos e a forma como estão arranajados nas plantas forrageiras Akin (1989), afirma que os mesmos apresentam tempo de digestão diferenciados e que essa variação é função da fração da planta de onde é originária, da classe fotossintética e do estágio de maturação da mesma. O autor conclui em seu estudo que, de maneira geral, as células do esclerênquima e xilema, são pouco digeridos, as células da epiderme e bainha parenquimática dos feixes são de digestão lenta a parcial e tecidos como mesofilo e floema são rapidamente digeridas.

Assim, de acordo com Wilson (1997), a proporção de tecidos das plantas forrageiras vem ajudar a elucidar as diferenças na digestibilidade entre as mesmas, pela quantificação dos tecidos de alta digestibilidade e aqueles que apresentam parede celular espessa, consequentemente de baixa digestibilidade.

A maior proporção de tecidos de rápida digestão aumenta a taxa de passagem e com isso o consumo dos alimentos, disponibilizando maior quantidade de nutrientes o

que garante maior desempenho dos animais alimentados com forrageiras com essa característica. Contudo, a proporção de tecidos não deve ser utilizada de maneira isolada para avaliar o valor nutritivo de plantas forrageiras, devendo-se conhecer também a espessura da parede celular dos tecidos e a sua composição química (PACIULLO, 1998).

Com relação aos grupos fotossintéticos, espécies C4 possuem maiores proporções de feixes vasculares e de células da bainha parenquimática dos feixes do que espécies C3, enquanto, as espécies C3 possuem maiores quantidades de células do mesófilo (WILSON et al., 1983), dessa maneira espécies C3 possuem maior valor nutritivo quando comparadas às espécies C4, devido às maiores proporções de tecidos digestíveis. Com relação as plantas de metabolismo CAM, em geral, o mesófilo apresenta bem diferenciado, com grande quantidade de células grandes e de parede delgada. As folhas de algumas plantas xerófitas são suculentas e contêm abundante tecido de armazenamento de água, sendo bastante digestíveis (ARRUDA et al., 2005; TAIZ e ZEIGER, 2009).

As diferenças qualitativas de ordem anatômica que afetam a performance animal, é função da disposição das células nos tecidos, da localização de esclerênquima, da espessura da parede da bainha do feixe vascular e a proporção de tecidos indigestíveis como xilema e esclerênquima. Portanto, as altas proporções de xilema desses tecidos estão relacionadas a forrageiras de baixo valor nutricional (QUEIROZ et al., 2000; LEMPP e MORAIS, 2005).

Assim como observa-se diferenças anatômicas entre indivíduos, as folhas e caules das plantas forrageiras apresentam diferenças na composição bromatológica, organização e constituição celular, e dessa maneira, a degradabilidade também é diferenciada entre os órgãos da planta (ALBRECHT et al., 1987).

A influência da maturidade fisiológica das plantas forrageiras sobre a formação da parede celular e sua degradabilidade é outro aspecto a ser considerado devido os efeitos no desempenho dos animais. Akin (1982) observaram que com o avançar da idade do trevo-vesiculoso (*Trifolium vesiculosum* Savi) e trevo-encarnado (*T. incarnatum* L.) houve diminuição da sua degradabilidade. Em plantas jovens Hatfield (1989) observou degradação de 900 g kg⁻¹ enquanto em resíduos de palha de cereais, esse valor reduz para 400 g kg⁻¹.

Levando-se em consideração que os microrganismos ruminais degradam a celulose e não digerem a lignina, quantificar os tecidos indigestíveis ou de baixa digestibilidade auxilia na avaliação da qualidade das forragens (BAUER et al., 2005).

2.2 Metabólitos secundários

Metabolismo é um conjunto de modificações das moléculas orgânicas, catalisadas por enzimas, ocorrendo nas células vivas, fornecendo energia ao organismo, restaurando suas moléculas e garantindo a sequência do estado organizado (MARZZOCO e TORRES, 2007). Em razão de existir enzimas específicas, essas reações apresentam direções definidas, formando, assim, rotas metabólicas essenciais no aproveitamento de nutrientes para atender as exigências da célula. Admite-se que além do metabolismo primário, essenciais para a manutenção das células, as plantas também apresentam, os chamados metabolismos secundários que formam outras substâncias fundamentais para a realização de funções vitais (CHAMPE et al., 2008).

Quase todos os compostos secundários são originados por meio do metabolismo da glicose, a qual é convertida em moléculas de ácido pirúvico podendo seguir duas vias divergentes. O ácido chiquímico, do qual origina-se todos os metabólitos secundários aromáticos (alcaloides indólicos, quinolínicos, isoquinolínicos, ligninas e lignanas, cumarinas e taninos hidrossolúveis). O acetil - coenzima A (acetil-coA), que pode seguir três vias divergentes: via do ciclo do ácido cítrico, via do mevalonato e via da condensação do acetato. A formação dos antraquinonas, flavonoides e dos taninos condensados, se dá através da combinação de uma unidade do ácido chiquímico, e uma ou mais unidades do acetato ou derivados deste (SANTOS, 2001; OLIVEIRA, 2003) (Figura 1).

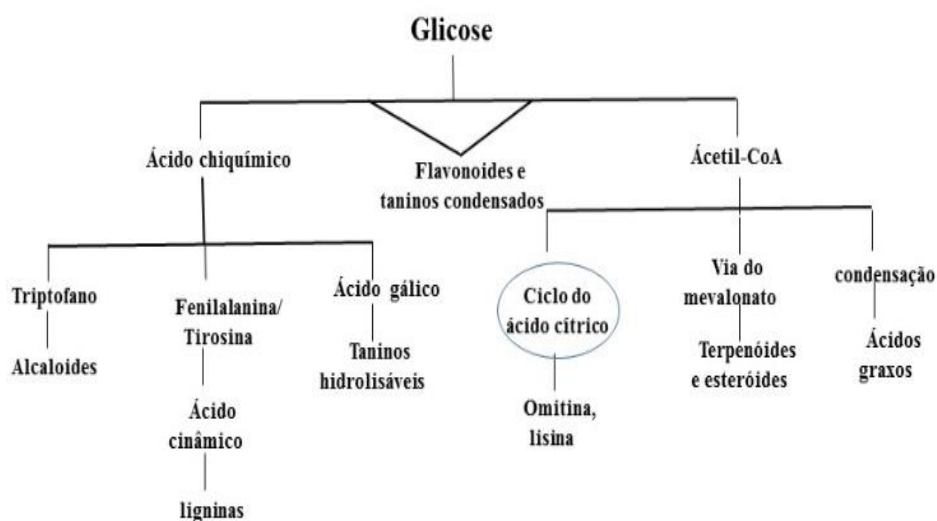


Figura 1. Rota Metabólica Vegetal. Fonte: Taiz ; Zeiger 2013 (Adaptado)

Os metabólitos secundários apresentam normalmente estrutura complexas, baixo peso molecular, detêm atividades biológicas marcantes e, inversamente aos metabólitos primários, encontram-se em baixas concentrações e em específicos grupos de plantas (BERG e LUBERT, 2008). Estes metabólitos já foram considerados no passado como produtos de excreção do vegetal, sabe-se que inúmeras dessas substâncias estão diretamente ligadas aos mecanismos que favorecem a adaptação do vegetal ao seu meio, favorecendo assim a sobrevivência da espécie (SIMÕES et al., 2007). Diante disso, esses metabólitos são de suma importância para os vegetais, pois apresentam alta capacidade biossintética, tanto em relação a sua diversidade numa mesma espécie quanto em relação ao número de substâncias produzidas (POSER e MENTZ, 2004).

Os fatores bióticos são considerados um dos principais componentes do meio externo, apresentam interação mediada por constituintes do metabolismo secundário. Desta perspectiva, as substâncias químicas presentes nos vegetais apresentam funções significativas como dispersores de semente, microrganismos simbiotes, competição entre plantas, atração de organismos benéficos como polinizadores, ataques de patógenos e herbivoria, contudo, destaca-se também pela ação protetora em relação a estresses abióticos relacionados ao conteúdo de água, níveis de luz, exposição UV, mudanças de temperatura e carência de nutrientes minerais (BARTLEY et al., 1994).

A síntese desses compostos depende diretamente do estágio fisiológico e do desenvolvimento da planta, bem como, condições ambientais, sazonais e externas (DIXON, 2001; OKSMAN e INZE, 2004). Vários fatores como: temperatura, sazonalidade, radiação ultravioleta, ciclo fenológico da planta, disponibilidade hídrica, nutrientes e condução aos estímulos mecânicos ou ataque de patógenos alteram a composição e a quantidade destes metabólitos nas plantas.

2.3 Classes dos metabolitos

Existem três principais classes de metabólitos secundários: compostos nitrogenados (alcaloides e glicosídeos cianogênicos), os precursores dos alcaloides são os aminoácidos aromáticos (triptofano e tirosina), que são derivados do ácido chiquímico (figura 2), compostos fenólicos (flavonoides, taninos e lignina), estes podem originar-se do ácido chiquímico ou ácido mevalônico e terpenos (saponinas) sua formação ocorre a partir do ácido mevalônico (no citoplasma) ou do piruvato e 3-fosfoglicerato (no cloroplasto) (TAIZ e ZEIGER, 2009; BODAS et al., 2012).

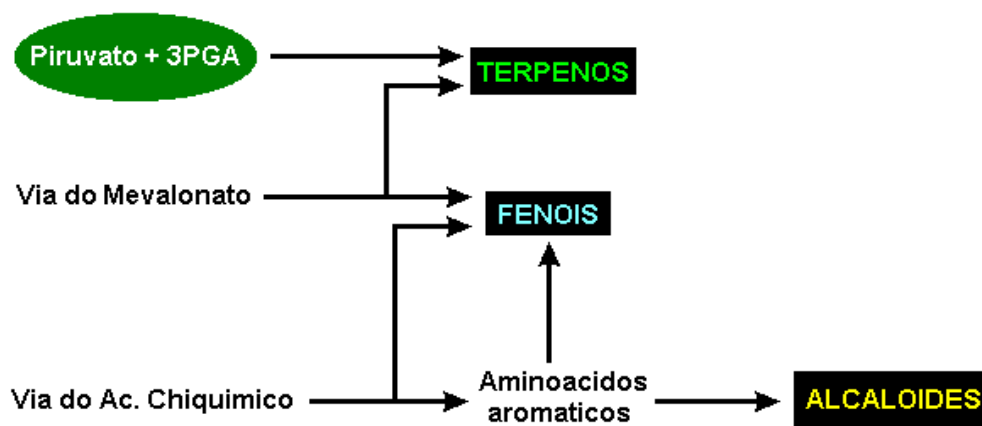


Figura 2. Principais vias do metabolismo secundário e suas interligações. Fonte: Peres, 2004

2.4 Compostos nitrogenados

Glicosídeos Cianogênicos

São compostos orgânicos constituídos por uma fração açúcar e uma fração não-açúcar. Sua liberação se dá por um processo enzimático, no qual consiste na hidrólise do açúcar, catalisada pela β -glicosidase, a qual hidrolisa a molécula do cianogênio liberando a cianoidrina e açúcar. Como a maioria das cianoidrinas são instáveis, são decompostas facilmente à cetona ou aldeído e ácido cianídrico. Essa decomposição é catalisada pela enzima hidroxinitrilo liase (LIENER, 1969; LINDNER, 1995; SHIBAMOTO e BJELDANES, 1993).

Todas as plantas que possuem como princípio ativo o ácido cianídrico (HCN), sendo este um líquido incolor, facilmente volátil, e considerado uma das principais substâncias tóxicas que se conhece, são denominadas plantas cianogênicas (LIMA JUNIOR et al., 2010). Diversas espécies de plantas possuem a capacidade de produzir ácido cianídrico, porém grande parte delas produz em concentrações suficientes que podem funcionar como formas de transporte de moléculas químicas na defesa contra insetos ou na forma de nitrogênio reduzido (MCMAHON et al., 1995; WHITE et al., 1998), tais como: a mandioca, o sorgo, o trevo branco, o linho, a ameixa, o bambu e o damasco (HAQUE e BRADBURY, 2002). Quando a concentração desse composto nos vegetais é superior a 20 mg por 100g do produto, a probabilidade de intoxicação após o consumo é relativamente alto (LIENER, 1969; SILVA, 2005).

As espécies do gênero *Manihot* são consideradas no Nordeste do Brasil como causadoras de mortes em ruminantes e sua abrangência vai desde o Piauí até a Bahia (TOKARNIA et al., 2000). São responsáveis por quantidades significativas dos glicosídeos cianogênicos, linamarina e lotaustralina estando presentes em quase todos os tecidos, com exceção nas sementes, havendo diferenças entre as variedades (ELIAS et al., 1997), sendo os tecidos que merece destaque por apresentar níveis mais altos desses compostos os ramos, folhas e casca da raiz, apresentando em menor concentração na polpa das raízes tuberosas (NAMBISAN e SUNDARESAN, 1984), nas folhas jovens essa concentração é relativamente maior do que nas adultas. Por outro lado, quando triturada e seca (fenada) ocorre redução da concentração do ácido cianídrico (HELBIG et al., 2008).

Alcaloides

São caracterizados como compostos orgânicos cíclicos, que apresentam nitrogênio no seu anel carbônico, pela presença do mesmo pode-se indicar que este composto é derivado de aminoácidos. Na sua maioria apresentam características incolores, cristalinas, de sabor amargo, não voláteis, insolúveis em água e solúvel em álcool etílico, éter, clorofórmio, tetracloreto de carbono, álcool amílico e benzeno. Podendo haver restrições para alguns, como no caso da conina e nicotina que são líquidos e solúveis em água (TAIZ e ZEIGER, 2009).

Estas classes de compostos são de grande importância, pois são caracterizados por causar toxidade nos animais, apresentando características como perda de peso, salivação, disfunções metabólicas com perda de pelos (alopecia), podendo vir causar também catarata, atrofia de gengiva, ulcerações da língua e esôfago, bócio e infertilidade para ruminantes e não-ruminantes, sendo estas características com menor intensidade (RADOSTISTS et al., 2000). Deste modo, além de ser tóxicos para os herbívoros e diminuir a palatabilidade, a ação desses compostos também prejudica a ingestão e a digestibilidade das forragens, possuindo ação antimicrobiana, afetando a atividade dos microrganismos do rúmen (OLIVEIRA et al., 2007).

São caracterizadas pela classe dos compostos que apresentam substâncias que possuem efeito marcante no sistema nervoso, sendo várias delas utilizadas como venenos ou alucinógenos (VIZZOTO et al., 2010). Desta perspectiva, os animais intoxicados apresentam como características desordem no sistema nervoso central, fibrose ventricular, redução na produção de leite, falhas na coordenação motora em

casos mais severos podem vir a óbito (MARTEN, 1973). Alguns alcaloides têm capacidade de causar deformações fetais e aborto, sendo denominados de alcaloides teratogênicos (BARNES e GUSTINE, 1973).

2.5 Compostos fenólicos

Os fenóis, também denominados compostos fenólicos, pertencem a uma classe de compostos com estruturas bastante diversificadas e apresentam pelo menos um anel aromático no qual, um hidrogênio é substituído por um grupamento hidroxila. Estas substâncias são sintetizadas a partir de duas rotas metabólicas principais: a via do ácido mevalônico, sendo esta menos significativa e a via do ácido chiquímico apresentando uma maior contribuição para sintetizar estes compostos (BODAS et al., 2012).

Nas plantas os compostos fenólicos são fundamentais no crescimento e reprodução dos vegetais, agindo também como agente antipatogênico e contribuindo na sua pigmentação (BALASUNDRAM et al., 2006). Deste modo, são atrativos para outros animais, os quais são atraídos para polinização ou dispersão de sementes. Além disso, protegem os tecidos da planta contra injúria, insetos e ataque de animais. Dentre os compostos fenólicos, destacam-se os grupos dos flavonoides, ligninas e taninos (PINTO et al., 2002).

Flavonoides

Os flavonóides são considerados um dos metabólitos secundários de maior abundância presentes nas diferentes espécies vegetais. São substâncias aromáticas de baixo peso molecular, formadas por 15 átomos de carbono (C15) no seu esqueleto básico, quanto a estrutura química destes compostos, apresentam dois anéis aromáticos, denominados anel A e B, unidos por três carbonos que formam um anel heterocíclico, denominado anel C, organizados na configuração C6-C3-C6. Grande parte da localização destes compostos apresenta-se nas partes aéreas de plantas de diferentes ecossistemas do mundo ou em outras partes da planta na forma de glicosídeos ou agliconas, assim como em alimentos processados como sucos, vinhos e chás, sendo ausentes apenas em organismos marinhos (ANGELO e JORGE, 2007).

Estes compostos desempenham várias funções para os vegetais, tanto na proteção contra bactérias, fungos, vírus, insetos; atração de animais com finalidade de polinização; antioxidantes; controle da ação de hormônios vegetais; agentes

alelopáticos; inibidores de enzimas, como também na proteção contra a incidência de raios ultravioleta (TAIZ e ZEIGER, 2009).

Com relação à sua estrutura química, este grupo divide-se em: flavonóis, antocianinas, flavononas, flavonas, flavanas e isoflavonas. Deste modo, apresentam várias funções biológicas quando consumidas frequentemente, atuando na atividade antitumoral e antioxidante, anti-inflamatória, além de estarem relacionadas à longevidade e à redução na incidência de doenças cardiovasculares (BALASUNDRAM et al., 2006; ACOSTA e ESTRADA et al., 2014). Diante dessas características atribuídas aos flavonoides tanto pesquisadores quanto indústrias e consumidores vem demonstrado interesse significativo a essa classe de compostos, devido sua importância na prevenção do câncer e doenças cardiovasculares.

Lignina

Este composto é importantíssimo uma vez que está presente em todas as espécies forrageiras. São polímeros ramificados de fenilpropanóides, originando-se do coniferil, comaril e/ou no álcool sinapil, que são sintetizados via fenilalanina (TAIZ e ZEIGER, 2004). A formação da lignina se deu através da condensação dos chamados ácidos fenólicos, agindo, deste modo, como suas unidades precursoras (JUNG et al., 1997).

Sendo os fenóis de grande importância na planta, pode ser encontrado na parede celular de muitos tecidos e suporte de transporte, em traqueídeos e vasos do xilema, tendo função de conferir resistência e sustentação ao vegetal, estando presente em todos os seus tecidos como constituinte da parede celular. Devido sua natureza tóxica por ser considerada como um composto fenólico, desempenha função significativa no controle dos patógenos vegetais (TAIZ e ZEIGER, 2009).

A lignina não apresenta uma estrutura definida, sendo apenas uma macromolécula derivada do fenol (polímero) que dependendo da sua quantidade e localização interage com outros polímeros da parede celular para promover impermeabilidade à água e garantir integridade estrutural que, conseqüentemente, estabelece barreira à degradação da forrageira pelos microrganismos ruminais (HATFIELD et al., 1999). Podemos verificar este composto principalmente no esclerênquima, nos vasos condutores de seiva bruta e elaborada. Todavia, podemos observar células no tecido do colênquima que se lignificam tornando as paredes mais espessas e selecionando-a para constituírem o

tecido esclerênquima. O fator isolado mais importante que podem limitar significativamente a digestibilidade de uma forrageira é a lignina (VAN SOEST, 1994).

Tanino

São compostos fenólicos solúveis em água e em solventes orgânicos polares, apresentando peso molecular (entre 500 a 3000 Daltons), podem formar aglomerados insolúveis em água com gelatinas, alcaloides e proteínas (MELLO et al., 2001). São compostos de grande importância, uma vez que tem como características causar adstringências em frutos e produtos vegetais (HOSU et al., 2014). Nos vegetais eles possuem a capacidade de inibir o consumo dos herbívoros por proporcionar à planta características indesejáveis como gosto amargo, odor repulsivo e provocar intoxicações, como também representam um meio de defesa contra a ação de vírus, fungos, bactérias, estresse ambiental (LIMA JUNIOR et al., 2010).

Diversos fatores influenciam a concentração desses compostos no vegetal, como condições edafoclimáticas, ciclo cicardiano e desenvolvimento do vegetal (GOBBO NETO e LOPES, 2007). Estes compostos estão presentes em grande parte das plantas e suas concentrações podem variar de acordo com a parte da planta coletada, idade e crescimento, do local de coleta época do ano (TEIXEIRA et al, 1990; SIMON et. al., 1999; LARCHER, 2000).

Conforme sua origem biossintética, os taninos são classificados em dois grupos: taninos condensados e hidrolisáveis, diferenciado pela estrutura química e na capacidade da mesma ser ou não hidrolisada (LIMA JUNIOR et. al., 2010).

Os taninos condensados ou proantocianidinas são oligômeros e polímeros formados pela policondensação de duas ou mais unidades de flavan-3-ols (catequina) e ou flavan 3,4 diols (leucoantocianidina), geralmente as ligações que ocorrem entre essas unidades estão entre os carbonos quatro de uma estrutura e oito da outra (QUEIROZ et al., 2002). São caracterizados por apresentar estruturas semelhantes aos flavonoides, ligados por ligações do tipo carbono-carbono e impossibilitado de ser quebrado por hidrólise, impedindo assim de serem absorvidos pelo trato gastro-intestinal (CANNAS, 2001). Desta perspectiva, quando ingeridos em baixas concentrações (3 a 4% da MS), deve-se ter bastante precaução, pois possuem a capacidade de proteger a proteína (by pass) ingerida da degradação ruminal, já quando se apresentam em altas concentrações (acima de 5% da MS) na dieta de ruminantes podem proporcionar ação antinutricional (BEELEN et al., 2008). Diante disso, diversas substâncias orgânicas como pectina, minerais, celulose, hemicelulose e especialmente proteínas, se interagem com os taninos

condensados formando um complexo que evita a ação das enzimas produzidas pelo trato gastrointestinal e a degradação pelos microrganismos ruminais, dificultando assim o aproveitamento dos alimentos, uma vez que são quase exclusivamente excretados (MCNEILL et al., 1998).

Quanto aos efeitos benéficos da inclusão dos taninos condensados na nutrição animal, estes estão geralmente associados à proteção das proteínas da degradação ruminal, a ação e à prevenção do timpanismo (GETACHEW, 1999).

As concentrações deste composto nos alimentos são baixas, atribui características sensoriais desejáveis, caso sua presença seja em excesso pode proporcionar aos frutos, e outros alimentos sensação adstringente, pois os taninos apresentam características de precipitar proteínas presentes na saliva formando um complexo insolúvel caracterizado por tal pela sensação (DEGÁSPARI et al., 2005).

Os taninos hidrolisáveis são classificados como poliésteres derivados de açúcares unidos por ligações éster-carboxila, sendo imediatamente hidrolisáveis em condições básicas ou ácidas, cuja estrutura básica desse tipo de tanino é representada por um poliol, frequentemente uma D-glucose com seus grupos hidroxilas esterificados pelo ácido gálico (galotaninos) ou pelo ácido hexadihidroxifênico (elagitaninos) (NOZELA, 2001). Sua presença ocorre quase exclusivamente em angiospermas dicotiledôneas, herbáceas e lenhosas (SIMÕES et al., 2007). Geralmente são encontrados nas plantas em baixas concentrações. Pelo fato de alguns desses metabólitos serem tóxicos podem causar necrose no fígado e rins, especialmente nos monogástricos, além de ocasionar hemorragias gastroentéricas (BEELEN et al., 2006).

Dependendo da sua concentração, os taninos podem formar complexos no rúmen, refletindo de forma positiva ou negativa sobre o desempenho animal (MAKKAR, 2003). Os taninos condensados são mais fáceis de serem degradados pelos microrganismos ruminais que os hidrolizáveis, uma vez que os condensados podem ser tóxicos para uma variedade de microrganismos, pois diminuem a decomposição da matéria orgânica e retardar a biodegradação (BHAT e. al., 1998).

2.6 Terpenos

A classe em que os terpenos são constituídos representa um amplo grupo dentro dos metabólitos secundários, são formadas por uma molécula de cinco carbono denominada isopreno ou isopentenilpirofosfato (MATTIJS et al., 2006). Desse modo, os terpenos são formados e classificados através da justaposição contínua de unidades de

isopreno, que dará origem aos demais terpenos (monoterpenos (C₁₀), sesquiterpenos (C₁₅), diterpenos (C₂₀), triterpenos (C₃₀) e os tetraterpenos (C₄₀), (TAIZ e ZEIGER, 2009; BODAS et al., 2012).

Dentre as diferentes funções dos terpenos nos vegetais podemos mencionar, desde a composição de alguns óleos essenciais (monoterpenos), que tem como característica a atração de polinizadores, ação inseticida, antimicrobiana (sesquiterpenos) (OLIVEIRA, 2007).

Os monoterpenos são compostos de baixo peso molecular, geralmente voláteis, sendo, constituídos de óleos essenciais. Contudo, nem todos os óleos voláteis são terpenoides, existem componentes de óleos essenciais que são compostos fenólicos (fenilpropanóides). Encontram-se geralmente estocados em flores (laranjeira), folhas (capim-limão, eucalipto, louro) ou ainda nas cascas dos caules (canelas), madeiras (sândalo, pau-rosa), raízes, rizomas, frutos (erva-doce) ou sementes. A composição desses óleos pode variar dependendo da localização em que estão inseridos esses órgãos nas plantas (SIMÕES et al., 2000).

A grande maioria dos sesquiterpenoides são considerados voláteis e, igualmente o sesquiterpenos, fazem parte da defesa da planta contra pragas e doenças. Podemos citar o gossipol que está associado à resistência a algumas pragas em variedades de algodão, sendo considerado um componente tóxico principalmente para monogástricos, ocasionando vários problemas aos animais como perda de apetite, fígado hipertrofiado e edemas pulmonares (CALHOUNAB et al., 1990). O nível o período de consumo, a idade e as condições de estresse animal é que vai determinar o nível de toxicidade para os animais (GAMBOA et al., 2001).

Conforme TAIZ e ZEIGER (2009), entre os diterpenos, podemos destacar a giberelina, hormônio vegetal de extrema importância responsável pela germinação de sementes, alongamento caulinar e expansão dos frutos de muitas espécies vegetais, este diterpeno juntamente com o forbol, são encontrados em leguminosas e euforbiáceas arbóreas, causando irritação cutânea nos órgãos digestivos dos herbívoros.

Saponinas

As saponinas são esteroides e triterpenos glicosídeos, caracterizadas por apresentar características detergentes e emulsificantes. Essa característica é atribuída a constituição de elementos lipofílicos (esteroides ou triterpenos) e hidrofílicos (açúcares), conferindo a esses metabólitos propriedades detergentes, como particularidade a formação de espuma (SCHENKEL et al., 2007). Quando produzidas

nas plantas, apresentam funções como regulação do crescimento, defesa contra patógenos e insetos, particularidades estas que destacam a importância desses compostos na adaptação e sobrevivência vegetal (WINA et al., 2005; SIMÕES et al., 2007).

A presença de dietas com 1% de saponina causa efeito deletério sobre a fermentação do rúmen, uma vez que diminui o teor de ácidos graxos totais e a taxa de acetato: propionato de 1,93 para 1,37 (KAMRA, 2005), além disso, inibem o crescimento e a atividade dos microrganismos no rúmen e causa hemólise em hemácias nos mamíferos herbívoros. Algumas também possuem a capacidade de ocasionar aborto e morte em ruminantes e monogástricos (HANSON et al., 1973). Se referindo ao organismo humano, este composto tem como característica principal apresentar atividade antioxidante ligando-se a sais biliares e colesterol no tubo digestivo, dificultando sua absorção, como também, detém ação citotóxica atuando contra células tumorais (SIMÕES et al., 2007).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Localização e Caracterização da Área de Estudo

O estudo foi desenvolvido na Universidade Federal da Paraíba, onde as coletas foram realizadas no Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de maniçoba, do Departamento de Zootecnia do Centro de Ciências Agrárias, Campus II – Areia, PB, localizada na microrregião do brejo paraibano, a 6° 58'12" de latitude sul e 35° 42'15" de longitude oeste, com altitude de 684 m acima do nível do mar. O clima da região é do tipo quente e úmido, com períodos de estiagem de cinco a seis meses. A precipitação pluvial no ano experimental foi de 1.178,3mm, temperatura média de 24,1°C, com umidade relativa média de aproximadamente 81% (Estação Meteorológica CCA-UFPB).

O Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de maniçoba do CCA foi formado em 2010 por 55 acessos da cultura provenientes de vários municípios do Estado da Paraíba e Pernambuco. Todos georeferenciados com auxílio de um aparelho GPS (Global Position System). Para a pesquisa foram selecionados três acessos (2, 4 e 38) provenientes dos municípios Barra de Santa Rosa, Monteiro e Boa vista, os quais apresentaram características genéticas distintas (SILVA, 2013), tais como características morfológicas, agronômicas, composição bromatológica e conteúdos de HCN. O período de coleta compreendeu desde maio de 2014 a abril de 2015, sendo considerado o início a partir da emissão de folhas até senescência e queda das mesmas. As coletas das folhas foram realizadas no horário da manhã, mediante observação visual, de acordo com o estágio de maturação das plantas, coletando as folhas jovens, maduras e senescentes.

3.2 Avaliação histo-anatômica e degradabilidade dos tecidos

Para as avaliações histo-anatômicas, foram selecionadas três plantas de cada acesso, das quais colheu-se folhas e pecíolos nos três estádios de maturação (jovem, maduro e senescente). A folha jovem foi coletada quando estava no início de seu desenvolvimento, a madura quando apresentava-se completamente expandida e a folha senescente foi considerada quando 20% de área da lâmina foliar apresentava cor amarela.

Retirou-se em torno da copa das árvores, três folhas e pecíolos para caracterização histo-anatômica através da confecção de lâminas histológicas. As folhas foram seccionadas no meio do limbo, preservando a nervura central e o pecíolo de forma a abranger a região mediana, em seguida aproximadamente seis fragmentos foram identificados e parte acondicionadas em freezer (-80°C) para avaliações da digestão dos tecidos e a outra parte das amostras foi armazenada em frasco de polietileno contendo solução de Formol, álcool e ácido acético 50 (90% de álcool 50°, 5% de ácido acético e 5% de formaldeído). Em seguida, cada amostra foi retirada da solução, desidratada em série alcoólica progressiva, emblocados em parafina, e seccionados transversalmente a 10 µm, com uso de micrótomo rotatório (JOHANSEN, 1940).

Para avaliação da degradabilidade dos tecidos foi utilizado a metodologia descrita por (AKIN, 1989) com adaptações, onde três fragmentos de folha e pecíolo medindo aproximadamente 1cm², foram acondicionados em cassetes histológicos de aproximadamente 2,0 cm de comprimento por 1,5 cm de largura para inclusão dos tecidos. Os fragmentos dos tecidos foram transportados em isopor com gelo ao local de incubação, colocados em uma bolsa de náilon, a qual permaneceu no rúmen de um bovino fistulado, por um período de 48 horas. Após este período, o material foi removido, colocado em água com gelo para paralisação da atividade microbológica e os resíduos dos fragmentos de cada cassete foram lavados com água destilada e armazenados em potes identificados contendo solução fixadora FAA50, posteriormente submetidos à série alcoólica progressiva, em seguida emblocados em parafina, seccionados em secções transversais aproximadamente a 10 µm de diâmetro em micrótomo manual e desparafinizados (HAGQUIST, 1974).

Ambas as seções foram coradas com safranina e azul de toluidina, montadas individualmente entre lâmina e lamínula com ajuda de uma gota de Entelan para melhor aderência da lâmina na lamínula. Após preparo das lâminas, procedeu-se as avaliações da quantificação de cada tecido com o auxílio de microscópio óptico comum com câmera acoplada e software de análise de imagens (Motic Imagens Plus 2.0). Para determinação da área total da seção, as medidas foram tomadas em área entre dois feixes vasculares maiores, incluindo um deles, localizada na porção mediana entre a nervura principal e a margem da lâmina foliar. No pecíolo, foi avaliada uma região entre o centro e a epiderme. Tanto na lâmina foliar como no pecíolo foram medidas as áreas em (µm) e calculado as proporções (%) das epidermes (EPI), esclerênquima (ESC), xilema mais fibras associadas (XIL), floema (FLO) e colênquima (COL). A região do

mesofilo (MES) foi calculada pela diferença entre a área total da seção transversal e as áreas dos demais tecidos.

Para a degradabilidade, mediu-se a área ocupada por cada tecido e analisou-se o desaparecimento dos tecidos pela degradabilidade ruminal. Esta foi determinada pela diferença entre a quantidade de tecidos verificada antes e após a incubação ruminal, sendo determinado o desaparecimento das epidermes (EPI), esclerênquima (ESC), xilema mais fibras associadas (XIL), floema (FLO), colênquima (COL) e parênquima (PAR).

Considerou-se digestibilidade alta dos tecidos, quando a degradabilidade foi entre 66-95%; média, entre 31-65%; e baixa quando foi de 1-30%.

3.3 Análise dos Metabólitos Secundários

Mediante observação visual, de acordo com os estádios de maturação das plantas, foram colhidas aproximadamente 200g das folhas no horário da manhã. Após as coletas, as amostras foram identificadas e colocadas para desidratar ao sol por 2 horas no período das 8:00 às 10:00 horas, em seguida transportadas para uma sala onde permaneceram na sombra até completar sua desidratação. Após esse período as amostras foram transportadas para o Laboratório de Análise de Alimentos e Nutrição Animal- LAANA, pertencente a UFPB onde foram moídos em moinho Wiley, usando peneiras de 1mm, colocados em potes plásticos vedados, identificados e conduzidos para o Laboratório de Tecnologia Farmacêutica do CCS/UFPB, onde foram preparados os extratos etanólico bruto. Utilizou-se, aproximadamente, 1g das amostras, para a realização do screening fitoquímico, onde foi identificado as principais classes dos compostos químicos, com a presença (+) ou ausência (-) de alcaloides, esteroides, saponinas, flavonoides e taninos, sendo a abundância expressa pela quantidade de sinais, conforme metodologia proposta por Matos (2009).

Para determinação de cada composto metabólico foram empregados os seguintes métodos: Os alcaloides foram detectados pelo método de precipitação, usando-se os reativos de Bouchardat (A), Mayer (B), Dragendorff (C) e Bertrand ou ácido sílico-túngstico (D). Os esteroides foram detectados pela reação de Liebermann-Burchard. Os taninos pelos métodos de precipitação com sais de ferro e gelatina. Os flavonoides detectados pelas reações de Shinoda e Taubouk e as saponinas pela agitação do extrato aquoso com formação de espuma persistente (DESOTI et al., 2011).

Alcaloides

Para detecção de alcaloides evaporou-se 25 mL do extrato alcoólico alcalinizando-se com 0,8 mL de hidróxido de sódio 1% (NaOH). Colocou-se 6 mL de água destilada com 6 mL de clorofórmio (CHCl_3), filtrou-se com algodão e colocou-se em funil de separação, para separação do extrato da camada clorofórmica. Adicionou-se à fase clorofórmica 6 mL de ácido clorídrico (HCL a 1%), agitou-se aguardou decantar até ficar límpido. A fase de ácido clorídrico sobrenadante, distribuiu-se em quatro tubos de ensaio, com 1 mL em cada. A seguir procedeu-se os respectivos testes com reagentes Bouchardat (3-5 gotas), Mayer (5 gotas), ácido sílico-tungstico (5 gotas), e Dragendorff (5 gotas), ocorrendo formação de precipitado na presença de alcaloides.

Esteroides

Os esteroides foram detectados evaporando-se 10 mL do extrato alcoólico até secura, colocou-se 2,5 mL de CHCl_3 (clorofórmio) e dissolveu-se. Essa solução foi distribuída em três tubos de ensaio, com 0,12, 0,25 e 0,5 mL respectivamente em cada um. Adicionou-se 2,0 mL de CHCl_3 e 1,0 mL de anidrido acético, em cada tubo, agitando-se levemente e em seguida adicionou-se 2 mL de H_2SO_4 (ácido sulfúrico) em cada tubo, agitando-se vagarosamente e observou-se a reação.

Saponinas

Para detecção das saponinas dissolveu-se 2 mL do extrato alcoólico em 10 mL de água em um tubo de ensaio de 20 mL, agitou-se por um minuto, em seguida, colocado em repouso por 10 minutos e observou-se se a espuma ainda era presente (teste positivo). A presença de saponinas indica que a substância é altamente solúvel em água.

Flavonoides

A detecção dos flavanoides procedeu-se ao colocar em um funil de separação 15 mL do extrato alcoólico, adicionou-se 15 mL de água destilada agitando-a. Posteriormente deixando em repouso adicionado 15 mL de CHCl_3 (clorofórmio). Deixou-se novamente em repouso até separação das camadas, onde foi desprezada a camada clorofórmica. O extrato restante foi concentrado e adicionou-se 3 mL de metanol, dissolveu-se e distribuiu-se 2 mL dessa solução em 2 tubos de ensaios. No primeiro tubo adicionou-se 2,0 mL de HCL (ácido clorídrico) a 10% e 1 cm de fita de magnésio, deixando-se reagir até desaparecer a fita, observando-se a coloração que

apareceu (coloração rósea = positivo). No segundo tubo, secou-se em banho Maria e colocou-se 1 mL de acetona, 0,05 mg de ácido oxálico e o mesmo de ácido bórico, colocando-se novamente em banho-maria por 5 minutos. Após esse tempo adiciona 10 mL de éter etílico, observando-se em luz ultravioleta a existência de fluorescência ou não.

Taninos

Os taninos foram detectados evaporando-se 50 mL do extrato alcoólico até secura, adicionou-se 10 mL de água destilada com 6 mL de CHCl_3 (clorofórmio), dissolveu-se bem e filtrou-se em funil de separação com algodão. Distribuiu-se o filtrado em seis tubos de ensaio, onde nos 3 primeiros tubos, testou-se a gelatina 0,5% e os outros 3, testou-se com FeCl 2%, colocando-se 0,5, 1,0 e 2,0 ml deste último, respectivamente.

3.4 Análise estatística

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado em um esquema fatorial ($3 \times 3 \times (2)$), sendo 3 acessos, 3 estádios de maturação (jovem, madura e senescente), 2 estruturas (folha e pecíolo), com 3 repetições, totalizando 54 unidades experimentais.

Os dados obtidos foram submetidos a análises de variância, aplicado o teste de Tukey a 5% de probabilidade, usando o PROC GLM do SAS (2001).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Anatômia da lâmina foliar e pecíolos de *Manihot* spp.

Em secções transversais das lâminas foliares observou-se que suas estruturas anatômicas nos diferentes estádios de maturação (jovem, maduro e senescente) (Figura 3). As lâminas foliares, apresentou uma cutícula que cobre toda a epiderme, com células papilosas na região abaxial e em formato tabular na região adaxial. As células da face abaxial são menos espessas que na face adaxial. Com relação ao mesófilo, o mesmo é constituído por uma estrutura dorsiventral, onde o parênquima esponjoso, composto aproximadamente por quatro camadas de células isodiamétricas, apresentou espaços intercelulares abundantes sendo estes frouxamente organizados e o parênquima paliádico composto por uma camada de células justapostas, ocupando mais da metade do mesófilo com poucos espaços intercelulares. Em meio as epidermes e os feixes vasculares de maior tamanho geralmente encontram-se algumas células de esclerênquima arranjas, formando uma estrutura de sustentação designada de estrutura girder.

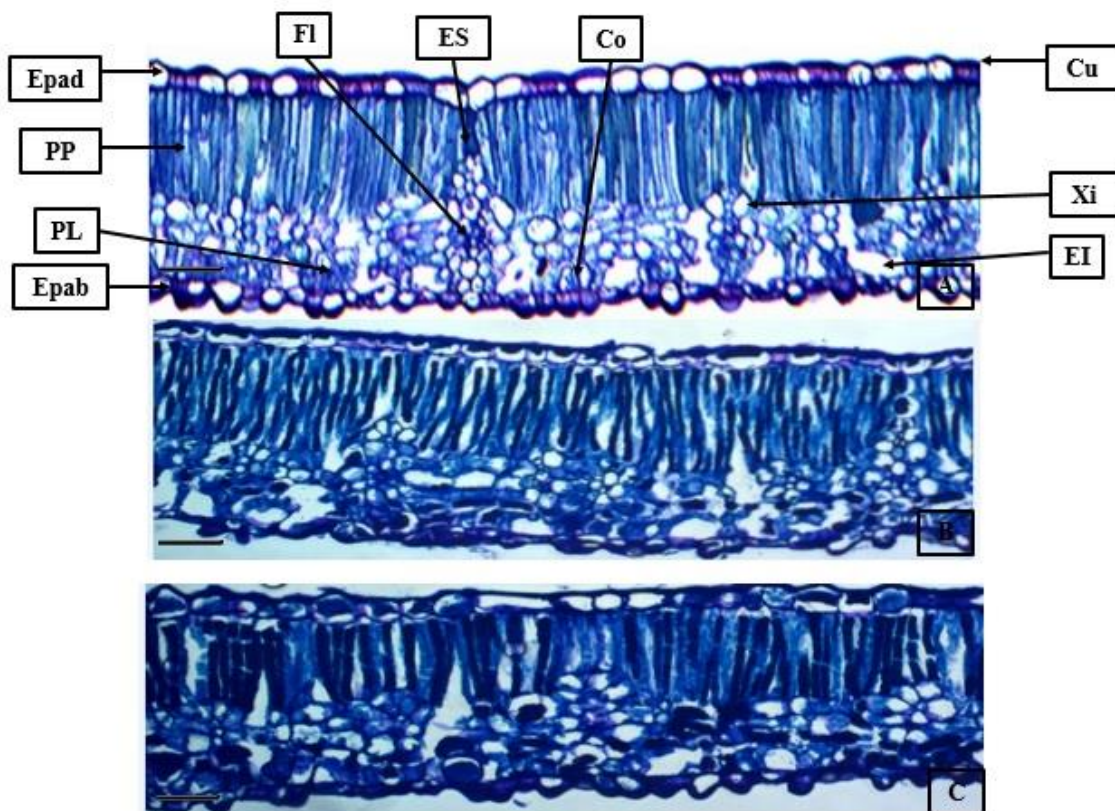


Figura 3. Secções transversais das lâminas foliares de maniçoba, Jovem (A), Madura (B), Senescente (C). Detalhe da epiderme adaxial (Epad), epiderme abaxial (Epab), parênquima paliçádico (PP), parênquima lacunoso (PL), xilema (Xi), floema (Fl), esclerênquima (Es), colênquima (Co), espaços inter-celulares (EI) e Cutícula (Cu). Coradas com azul de toluidina. Barras: A-C= 100 µm.

Em secção transversal do pecíolo observou-se que sua epiderme é unisseriada, sendo esta recoberta por uma cutícula delgada (Figura 4). O parênquima apresentou-se arranjado em 5-6 camadas de células parenquimáticas. Em sequência, uma fina camada de colênquima do tipo angular, subsequente a este novamente tecido parenquimático. Em sequência, há uma bainha esclerenquimática com paredes espessas rodeando o floema e formando um anel externamente a faixa cambial. O xilema encontra-se de forma organizado e internamente ao sistema vascular está o parênquima.

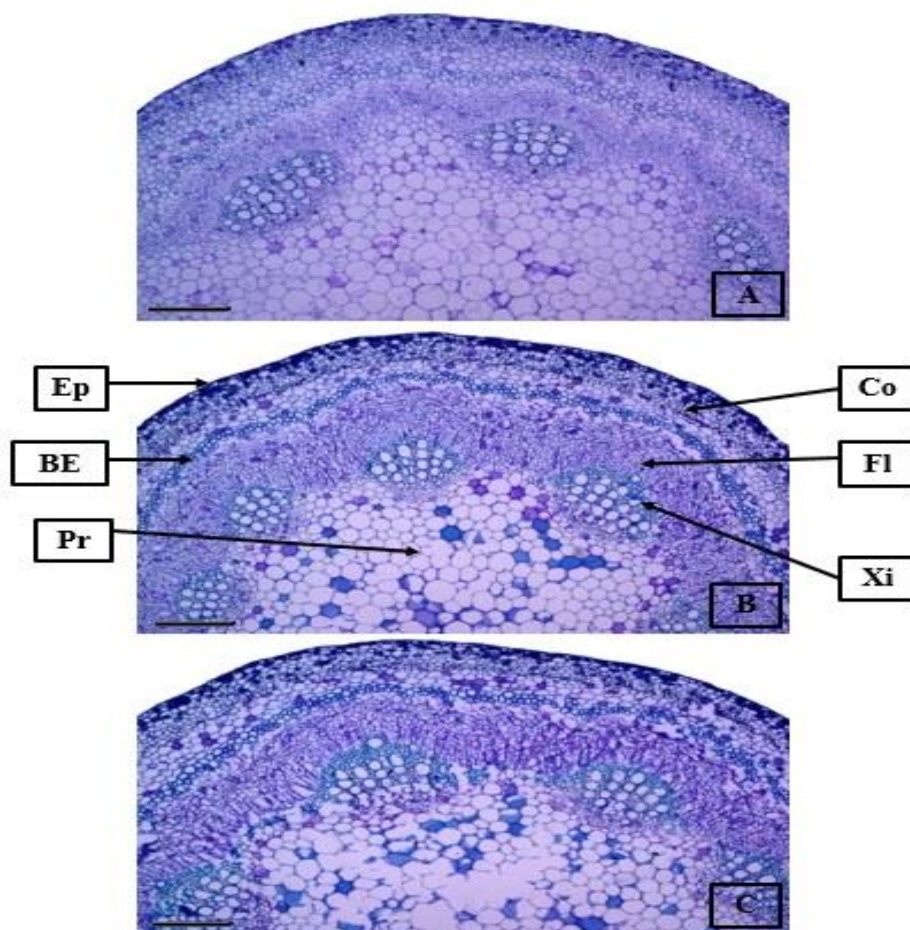


Figura 4. Secções transversais dos pecíolos de maniçoba, Jovem (A), Maduro (B) e Senescente (C). Detalhe da epiderme (Ep), Colênquima (Co), bainha esclerenquimática (BE), floema (Fl), xilema (Xi) e Parênquima (Pr). Corados com azul de toluidina. Barras: A-C=100 μ m.

Não houveram diferenças significativas ($P>0,05$) para as variáveis epiderme abaxial, floema e esclerênquima da lâmina foliar se maniçoba (Tabela 1). Com relação a epiderme adaxial houve diferença quando comparadas folhas jovem e senescente ($P<0,05$), conforme pode ser observada nas secções transversais (Figura 4 A, C). A maior proporção foi observada para a folha senescente (11,90%), diferindo da folha jovem (10,28%) e, a folha madura não diferiu das demais (11,10%). Na epiderme adaxial percebe-se que as células são maiores e suas paredes são mais grossas que as abaxiais (Figura 3). A maior proporção da epiderme adaxial observada na folha senescente é um fator negativo, uma vez que quanto maior sua espessura menor será a degradabilidade. Uma das justificativas para o aumento da espessura da epiderme, principalmente das folhas senescentes, pode estar relacionada a intensidade de radiação (SOUZA et al., 2007; CASTRO et al., 2009). O menor percentual de epiderme adaxial da lâmina foliar observado no estágio jovem pode ser justificado ao seu

desenvolvimento estrutural, isso implica dizer que essa estrutura apresenta uma menor proporção desse tecido, o que favorece uma maior degradabilidade quando comparada a folha senescente.

Tabela 1- Proporção (%) dos tecidos de maniçoba em estádios de maturação da lâmina foliar.

Estádios de maturação	Epiderme adaxial	Epiderme abaxial	Floema	Xilema	Esclerênquima	Colênquima	Mesófilo
Jovem	10,28 b	8,43 a	0,62 a	8,29 b	2,67 a	1,84 b	67,87 a
Madura	11,10 ab	9,43 a	0,48 a	7,76 b	2,76 a	2,27 ab	66,10 a
Senescente	11,90 a	12,43 a	0,66 a	10,26a	3,32 a	2,72 a	58,71 b
Média	11,09	10,09	0,58	8,77	2,91	2,27	64,22
Cv (%)	11,92	39,22	31,72	12,25	21,17	24,25	8,40

*Médias com mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey ($P>0,05$) de probabilidade.

A proporção do xilema não diferiu entre o estágio jovem e maduro. No entanto, estes diferiram do senescente, que apresentou maior percentual de xilema (10,26%). A maior proporção deste constituinte nas folhas senescentes, atribui-se ao fato da planta já ter completado seu estágio fenológico e seus vasos condutores (xilema) já estarem completamente desenvolvido, ocupando uma maior proporção da área total do tecido quando comparando com os demais estádios

Com relação ao colênquima ($P<0,05$), observou-se que houve diferença entre os estádios jovem (1,84%) e senescente (2,72%). O colênquima é considerado um dos tecidos com função de sustentação, sendo assim, na fase de senescência, observou-se maior proporção, conseqüentemente, o valor nutricional tende a diminuir, pois quanto maior a proporção desse tecido, menor será a colonização dos microrganismos ruminais as partículas de alimento.

Não houve efeito para o mesófilo entre folhas jovens e maduras, todavia estes diferenciaram-se ($P<0,05$) da folha senescente (Tabela 1, Figura 3 C). Resultados já esperado pois medida em que há um maior desenvolvimento dos vasos condutores ocorre uma redução na proporção das células do mesófilo. Verifica-se maiores espaços intercelulares na lâmina foliar jovem (Figura 3 A), característica essa que possui relação positiva com a digestibilidade, pois estes espaços intercelulares facilita o acesso aos microrganismos do rúmen às paredes das células (PACIULLO et al., 1998).

Não constatou-se diferença ($P>0,05$) da epiderme, floema, xilema e colênquima do pecíolo no estágio maduro, havendo diferença apenas para mesófilo (Tabela 2). Também não foi observado diferença para o floema no estágio senescente. No entanto, verificou-se que os estádios maduros e senescente apresentaram maior proporção de

epiderme, com médias de 1,07% e 1,19%, respectivamente. Estes resultados foram inferiores aos verificados por Guedes (2015) de 2,28% para *Manihot glaziovii*. A epiderme do estágio jovem (1,05%) apresentou menor proporção de estrutura protetora do total da área ocupada pelos tecidos.

A maior proporção da epiderme no estágio senescente pode ser justificada devido ao fato do pecíolo está na última fase de maturação fisiológica, totalmente desenvolvido e consequentemente com maior espessamento da parede celular.

Tabela 2- Proporção (%) dos tecidos de pecíolo da maniçoba em diferentes acessos e estádios de maturação.

	Epiderme	Floema	Xilema	Colênquima	Mesófilo
Jovem					
Acesso 02	0,98ab	8,89b	7,11b	4,18a	77,06a
Acesso 04	1,28a	13,28a	10,70b	3,26a	70,21b
Acesso 38	0,90b	11,78ab	8,60b	3,64a	64,64c
Médias	1,05	11,31	8,80	3,69	70,63
Madura					
Acesso 02	0,99a	13,22a	9,86a	4,03a	67,90b
Acesso 04	1,05a	9,88 a	8,45a	4,04a	69,90ab
Acesso 38	1,18a	12,04a	9,19a	4,07a	72,60a
Médias	1,07	11,71	9,16	4,04	70,13
Senescente					
Acesso 02	1,42a	16,07a	9,77b	3,52b	63,34b
Acesso 04	0,97b	16,19a	11,91a	5,76a	63,34b
Acesso 38	1,20ab	13,31a	7,82c	5,56a	69,68b
Médias	1,19	15,19	9,83	4,94	65,45

*Médias com mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 0,5% de probabilidade, ($P>0,05$).

O floema e o xilema do pecíolo dos acessos de maniçoba apresentaram maior proporção no estágio senescente, onde o acesso 04 apresentou maior valor (16,19 e 11,91%), respectivamente (Tabela 2, Figura 4B-C). A maior proporção de tecidos de xilema do pecíolo no estágio de senescência do acesso 04 torna-se indigestível para os microrganismos ruminais devido ao aumento do teor de lignina (AKIN, 1989).

A maior proporção do colênquima foi verificado no estágio senescente (4,94%) seguido de menor proporção no estágio jovem (3,69%). Com relação aos acessos, estes apresentaram diferença ($P<0,05$) apenas no estágio senescente, onde o acesso 04 apresentou maior valor (5,76%). A diferença na variação deste tecido se dá com o amadurecimento da planta, o que implica dizer que o estágio que apresentou maior quantidade deste tecido poderá ter sua digestibilidade afetada. A presença do colênquima não interfere com tanta intensidade na digestão como o esclerênquima, pois suas células não são lignificadas, com isso sua digestão pode ser facilitada.

Para o mesófilo não houve efeito significativo ($P>0,05$) entre os acessos no estágio senescente (Tabela 4). Verifica-se ainda efeito ($P<0,05$) nos estádios jovem e maduro para esta variável.

Assim como apresentado na lâmina foliar, maior proporção do mesófilo foi observado no estágio jovem (70,63%), tendo em vista que neste estágio de desenvolvimento a proporção dos demais tecidos ocuparam um menor espaço, uma vez que estes ainda estavam em desenvolvimento, tornando-se mais digestíveis que os demais, pela facilidade de colonização pelos microrganismos ruminais, favorecendo o valor nutricional. Considerando que os demais tecidos aumentaram com o avançar do estágio de jovem para senescência, justifica-se a redução do tecido mesófilo do pecíolo da maniçoba com menor evidencia no acesso 38.

4.2 Degradabilidade dos tecidos de *Manihot* spp. em diferentes estádios de maturação

Observou-se diferenças ($P<0,05$) quanto à degradabilidade dos tecidos epiderme adaxial, xilema, colênquima e mesófilo das lâminas foliares nos diferentes estádios de maturação de *Manihot* spp (Tabela 3) e não significativo para epiderme abaxial, floema e esclerênquima.

Nos dados obtidos vê-se, que independente do estágio de maturação, os tecidos dos xilemas e esclerênquimas não sofreram degradação (Tabela 1 e 3), mantendo a mesma proporção de tecidos após avaliação da degradabilidade.

Tabela 3. Degradabilidade dos tecidos de maniçoba em diferentes estádios de maturação da lâmina foliar.

Estádios de maturação	Epiderme adaxial	Epiderme abaxial	Floema	Xilema	Esclerênquima	Colênquima	Mesófilo
Jovem	4,20a	3,80a	0,53a	8,29b	2,68a	0,66a	62,10a
Madura	2,78b	2,36a	0,38a	7,76b	2,76a	0,57ab	58,37a
Senescente	1,54c	1,27a	0,44a	10,27a	3,32a	0,40b	47,85b
Média	2,84	2,47	0,45	8,77	2,29	0,54	56,10
CV (%)	14,08	52,59	29,63	15,25	21,17	28,10	8,67

*Médias com mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey a 0,5% de probabilidade, ($P>0,05$).

Com relação a proporção de tecidos degradados nas lâminas foliares jovens (Figura 5-A) de *Manihot* spp, observou-se alta degradabilidade para as células que constituem o mesófilo (91,49%) e, floema (85,48%). Para as epidermes adaxial (40,85%) e abaxial (45,07%) e o colênquima (35,86%) a degradabilidade foi média.

As lâminas foliares maduras (Figura 5-B), apresentaram alta degradabilidade do mesófilo (88,30%) e floema (79,16%), baixa degradabilidade para epiderme adaxial (25,04%), abaxial (25,02%) e colênquima (25,11%).

Analizando o desaparecimento dos tecidos das lâminas foliares senescentes (Figura 5-C), verificou-se alta degradabilidade do mesófilo (81,50%) e do floema (66,66%), enquanto que os demais tecidos como a epiderme adaxial (12,94%), abaxial (10,21%) e o colênquima (14,70%), a degradabilidade foi baixa.

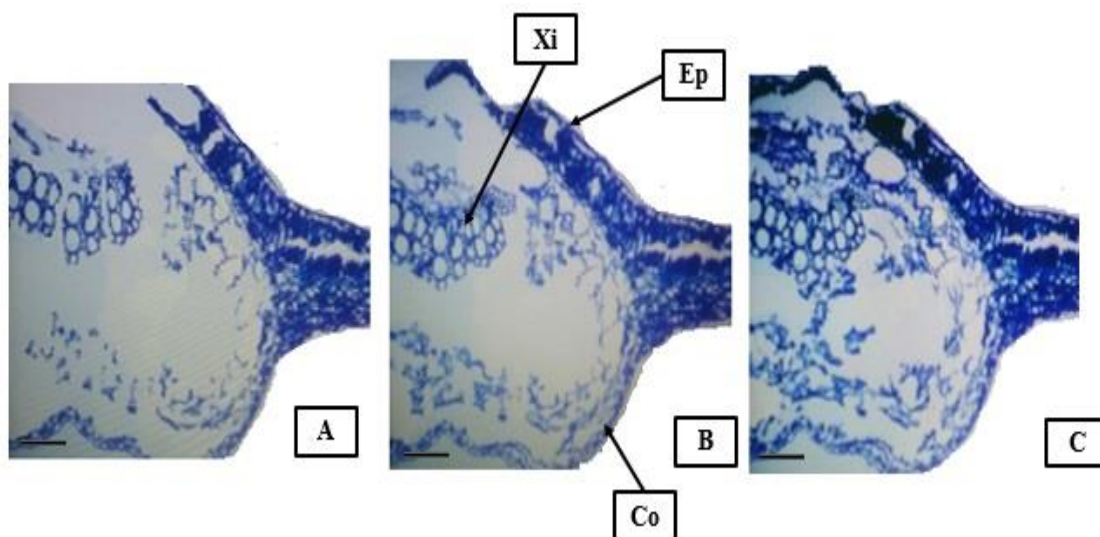


Figura 5. Secções transversais da lâmina foliar de maniçoba, Jovem (A), Maduro (B), e Senescente C). Detalhe da degradabilidade da epiderme (Ep), colênquima (Co) e xilema (Xi). Corados com azul de toluidina. Barras: A-C = 100 µm.

Com relação as proporções dos tecidos do pecíolo conforme estádios de maturação não foi verificada diferença ($P > 0,05$) para o xilema.

Os pecíolos no estágio jovem (Figura 6-A), apresentaram alta degradabilidade para as células que constituem o mesófilo (78,16%) e floema (88,77%), degradabilidade média para as células do colênquima (44,98%), e baixa para epiderme (29,62%).

Nos pecíolos maduros (Figura 6-B), observou-se alta degradabilidade para os tecidos que apresentam paredes não lignificadas que consequentemente tiveram uma maior degradação como no caso do mesófilo (76,36%) e floema (80,27%), o colênquima foi parcialmente digerido (44,98%), enquanto que a epiderme degradou apenas (20,19%).

Para os pecíolos senescentes (Figura 6-C), observou-se alta digestão do mesófilo (72,68%) e do floema (71,62%). Já a epiderme (10,00%) e colênquima (10,52%) apresentaram baixa degradabilidade.

Tabela 4. Degradabilidade dos tecidos de maniçoba em diferentes estádios de maturação do pecíolo

Estádios de Maturação	Epiderme	Floema	Xilema	Esclerênquima	Colênquima	Mesófilo
Jovem	0,32a	10,04a	8,81b	3,21b	1,66a	55,99a
Madura	0,21b	9,40a	9,17ab	3,89ab	0,99b	53,58a
Senescente	0,12c	10,88a	9,83a	4,59a	0,52c	46,71b
Média	0,21	10,10	9,27	3,89	1,05	52,09
CV(%)	25,42	13,61	7,73	25,58	22,14	4,54

*Médias com mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste Tukey ($P>0,05$) de probabilidade.

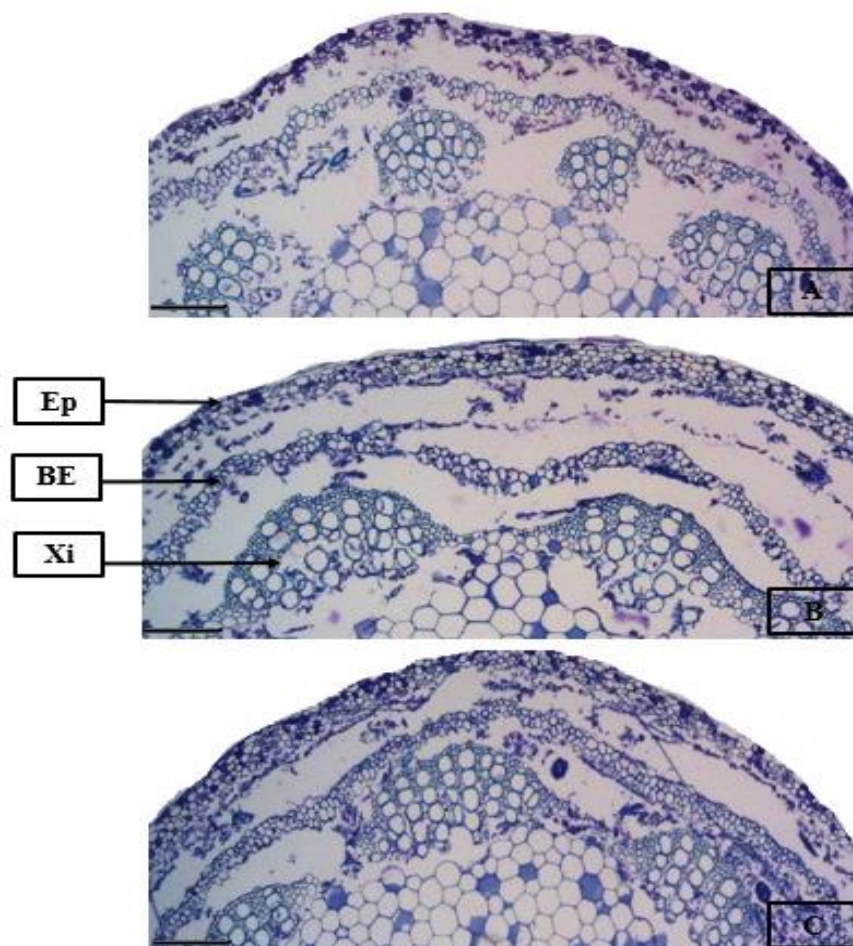


Figura 6. Secções transversais dos pecíolos de maniçoba, Jovem (A), Maduro (B), e Senescente C). Detalhe da degradabilidade da epiderme (Ep), bainha esclerenquimática (BE) e xilema (Xi). Corados com azul de toluidina. Barras: A-C= 100 μ m.

A facilidade de digestão de uma planta forrageiras pode estar relacionada tanto com a composição bromatológica, bem como com a composição histológica. Em se tratando de composição histológica, o potencial da digestibilidade está relacionado com os diferentes tecidos que as compõe, onde estes apresentam digestão específica. Assim o valor nutritivo dessas plantas depende, em parte, da proporção de tecidos digestíveis e indigestíveis (BRITO et al., 1999; VALENTE et al., 2011), a espessura da parede

celular e a densidade com que as células estão dispostas também influenciam na digestibilidade dessas forrageiras (AKIN, 1989; PACIULLO et al., 2002).

O estágio de desenvolvimento e o nível de inserção da folha no perfilho, influenciam significativamente as características anatômicas e nutricionais (WILSON, 1976; QUEIROZ et al., 2000). Com a maturação fisiológica das plantas, observam-se alterações estruturais e químicas nos tecidos, que se refletem principalmente na redução da digestibilidade.

As primeiras células a serem digeridas pelas bactérias ruminais, são as células do floema e mesófilo, fato esse atribuído a presença de uma delgada parede primária não-lignificada (AKIN et al., 1973). Esta por sua vez que é rapidamente quebrada em partículas menores e prontamente digeridas (CHESSON et al., 1986). Como o parênquima é um dos tecidos que possui em sua composição, uma proporção menor de lignina, observou-se que este tecido se apresentou em grande proporção, contribuindo com que a digestão ocorresse primeiramente neste tecido. Verificou-se ainda que nos diferentes estádios de desenvolvimento da planta, com o avançar da maturação, os outros tecidos estava mais desenvolvidos, conseqüentemente, na fase senescente foi comprometida tanto nos tecidos das lâminas foliares como nos pecíolos.

Com relação ao colênquima, sua degradação parcial está relacionado a suas paredes espessas, sendo frequentemente lignificadas nos órgãos vegetais maduros (ESAU, 2000). Como observado, tanto nas lâminas foliares como nos pecíolos (Tabela 3-4) com o avançar da maturação a digestibilidade foi comprometida, reduzindo significativamente a degradação, devido ao aumento dos teores de ligninas, redução do valor nutritivo, nos tecidos maduros.

Com relação ao xilema e esclerênquima, a resistência a degradação está relacionada a constituição da parede celular que formam esses tecidos, uma vez que ambos possuem parede celular secundária com espessura variando de 1 a 3 μm que tem como função dar resistência as células vegetais (WILSON, 1993; GLÓRIA e GUERREIRO, 2006). De acordo com Akin et al., (1989), a espessura da parede celular também interfere na digestibilidade desses tecidos, contribuindo para a indigestibilidade.

Os microrganismos ruminais conseguem digerir a celulose, no entanto, não digerem a lignina. Deste modo, tecidos com elevadas proporções de lignina influenciam a qualidade das forrageiras. Vale ressaltar que os tecidos do xilema e esclerênquima não sofreram degradação, independente do seu estágio de maturação.

Como evidenciado nesse trabalho e descrito por Akin (1989), as células que constituem a epiderme da lâmina foliar, de modo geral, são de digestão lenta a parcial,

do mesmo modo se comportou as do pecíolo, o estágio jovem foi o que apresentou maior degradação para todos os tecidos (Tabela 3-4, Figura 5-6).

4.3 Metabólitos Secundários

Observou-se na triagem fitoquímica das folhas de maniçoba a presença de esteroides, taninos, flavonoides e saponinas (Tabela 5).

Tabela 5. Perfil fitoquímico de extrato bruto etanólico de folhas dos acessos de maniçoba em diferentes estádios de maturação

Estádios de Maturação	Alcaloides				Esteroides (<i>Liebermann-Burchard</i>)	Taninos		Flavonoides		Saponina
	A	B	C	D		Gelatina 0,5%	FeCl ₃ 2%	Fita- magnésio (<i>Shinoda</i>)	Fluorescência (<i>Taubouk</i>)	Espuma
Acesso 02										
Jovem	-	-	-	-	+++	++	+++	++	+++	+
Madura	-	-	-	-	++	++	+++	++	+++	+
Senescente	-	-	-	-	++	++	+++	++	++	++
Acesso 04										
Jovem	-	-	-	-	+++	++	+++	++	+++	+++
Madura	-	-	-	-	+++	+	++	+++	+++	++
Senescente	-	-	-	-	+++	+	++	++	++	-
Acesso 38										
Jovem	-	-	-	-	+++	++	++	++	+++	++
Madura	-	-	-	-	+++	+	++	+++	+++	++
Senescente	-	-	-	-	++	+	++	++	++	+

Legenda: (A) *Bouchardat*, (B) *Maye*, (C) *Dragendorf*, (D) *Bertrand* ou ácido sílico-túngstico; “+++” (intensidade alta), “++” (intensidade média), “+” (intensidade baixa), “-” (reação negativa)

As folhas dos acessos de maniçoba (*Manihot* ssp.) apresentaram ausência de alcaloides em todos os estádios e acessos avaliados. A ausência desse metabólito em uma forrageira é muito importante para a nutrição animal, uma vez que, quando presente pode causar toxicidade para o animal, além de prejudicar a ingestão e a digestibilidade da forragem.

Todos os acessos avaliados apresentaram positividade para a presença de esteroides, com a superioridade no acesso 04 em todos os estádios, já para os demais acessos foram diminuindo com o amadurecimento da planta, principalmente no acesso 02 que na presença deste compostos decresceu conforme a maturação. Os esteróis são derivados de triterpenos componentes essenciais das membranas celulares, os quais são estabilizados pela interação desses componentes com os fosfolipídeos. Além disso, este composto se destaca por promover o crescimento e desenvolvimento dos vegetais,

podendo considerá-los como metabólitos primários ao invés de secundários (TAIZ e ZEIGER, 2013).

Observou-se a presença de taninos nos três acessos estudados, contudo o acesso 02 apresentou uma maior intensidade tanto no método de precipitação da gelatina, como no de sais de ferro, mostrando-se não haver diferença na presença deste composto nos três estádios de maturação da planta, evidenciando assim que este acesso dispõe de uma maior concentração deste composto fenólico. Para os demais acessos avaliados houve uma maior presença deste composto no método de precipitação de FeCl_3 , sem haver diferença nos diferentes estádios, exceto no acesso 04, que foi maior no estágio inicial (+++).

Ressalta-se que os taninos têm um importante papel na nutrição animal, podendo exercer efeitos benéficos e/ou adversos, quando em altas concentrações, comportando-se como um fator antinutricional, com relação a digestão e absorção dos nutrientes pelo trato gastrointestinal, bem como para a saúde e consequentemente a produção animal. Nos animais monogástricos os efeitos são mais acentuados, principalmente quando os teores de taninos condensados são acima de 1% na dieta, acarretando prejuízos para produção, devido ao comprometimento do consumo e da digestibilidade da proteína e dos aminoácidos essenciais (McDONALD et al., 1995), além da toxicidade. Já os ruminantes são mais tolerantes aos taninos devido à ação dos microrganismos do rúmen, com diminuição dos efeitos negativos, pois são capazes de degradar compostos antinutricionais em substâncias mais simples e não tóxicas.

Nos testes realizados para a identificação dos flavonoides, observou-se intensidade média a alta em todos os acessos. Ressalta-se ainda que para o método de Shinoda, o acesso 02 apresentou intensidade média em todos os estádios, nos demais acessos ocorreu houveram uma maior intensidade no estágio maduro, e média concentração nos outros estádios. No método de Taubouk, todos os acessos apresentaram o mesmo comportamento, alta intensidade nos estádios jovens e maduros e média quando senescente.

Conforme Simestad (1998), os tecidos mais novos, geralmente, apresentam maiores taxas biossintéticas de metabólitos, como os flavonoides. A idade e o desenvolvimento da planta, bem como os diferentes órgãos vegetais, também podem influenciar não só a quantidade dos metabólitos produzidos, como as proporções de cada componente (BOWERS e STAMP, 1993; EVANS, 1997; HENDRIKS et. al., 1997). Em estudos com amostras de folhas de *Tournefortia paniculata* Cham onde foi levado em consideração a época de colheita, Moraes et al (2007) constataram variações

nos teores médios de flavonoides, demonstrando que a produção desses constituintes pode estar restrita a algum estágio específico do desenvolvimento da planta ou a determinadas condições ecológicas ou ambientais.

A acumulação dos flavonoides ocorre nos tecidos superficiais (epiderme, subepiderme, pelos, cutícula e material epicuticular) e são utilizados pela planta como filtros UV, uma vez que absorvem radiação UV-B sem alterar a radiação fotossinteticamente ativa, protegendo as células das folhas, como também os cloroplastos, das radiações UV (TAIZ e ZEIGER, 2004). Nesta perspectiva, a presença de flavonoides nas espécies da caatinga já era esperada, uma vez que a intensidade luminosa é alta na região Semiárida. Além da radiação UV, possivelmente, a temperatura pode ter contribuído na concentração desse composto. Estudos relatam a intensidade desse metabólito na Catingueira (BAHIA et al. 2010 e FRANÇA, 2012).

Quanto à presença de saponina todos os acessos avaliados apresentaram positividade, exceto o acesso 04 no estágio senescente. Já o acesso 02 no mesmo estágio de maturação apresentou intensidade média (++). Segundo Garcia e Carril (2009) e Lima Jr et. al., (2010) este composto tem a capacidade de formar complexos com os esteroides, proteínas e fosfolípidos das membranas de fungos e protozoários ruminais, agem desestruturando a ação dessas membranas, além de impedirem o crescimento de bactérias gram positivas da flora ruminal. Kamra (2005) salienta que as saponinas também causam efeito deletério sobre a fermentação do rúmen, ocasionando uma redução no total dos ácidos graxos totais e a taxa de acetato: propionato de 1,93 para 1,37 na presença de 1% de saponina na dieta.

Possivelmente, a produção de metabólitos secundários pode estar restrita a um estágio específico do desenvolvimento do vegetal ou a determinadas condições ambientais. Além disso, poderá encontrar diferenças no perfil metabólico entre espécies e até mesmo dentro da mesma espécie. Os fatores que contribuem para essa diferença sazonalidade, temperatura, idade da planta, disponibilidade hídrica, bem como o desenvolvimento do vegetal, isolados ou associados uns aos outros (GOBBO-NETO e LOPES, 2007). Provavelmente alguns destes fatores tenham afetado o teor de compostos químicos dos acessos utilizados neste estudo.

Com base nos perfis fitoquímicos da folha dos acessos de maniçoba (*Manihot* spp.) em diferentes estádios de maturação, quando foram submetidos ao índice de similaridade de Jaccard, verificou-se o agrupamento dos acessos com base nas suas características semelhantes e divergentes (Figura 7). Neste sentido, os acessos 04 e 38, provenientes de Monteiro e Boa Vista, respectivamente, são os mais similares,

formando o grupo I, enquanto que o acesso 02, proveniente de Barra de Santa Rosa, devido a pouca semelhanças com os demais formou o grupo II. É importante salientar que os acessos são indiferentes quando no estágio jovem (Figura. 7), pois as estruturas anatômicas e os perfis fitoquímicos são similares, e os acessos formam um único grupo. Por outro lado, quando comparamos os perfis fitoquímicos nos estádios maduros (M) e senescente (S), observa-se que os acessos 04 e 38 são similares e contrastantes em relação ao acesso 02. Assim, é possível sugerir cruzamento entre os acessos mais divergentes, no programa de melhoramento de maniçoba, para fins de forrageiro.

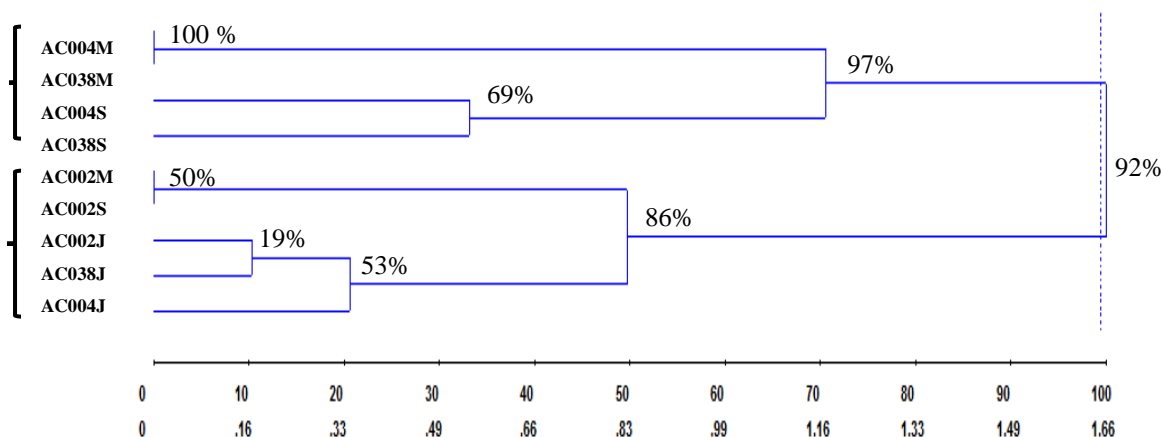


Figura 7. Dendrograma da análise de agrupamento obtido, pelo método Ward em três acessos de maniçoba (*Manihot* spp.) conforme coeficientes de similaridade de Jaccard. Valores do “bootstrap” em percentagem para 100 repetições. (AC004M) Acesso 04 Maduro, (AC038M) Acesso 38 Maduro, (AC004S) Acesso 04 senescente, (AC038S) Acesso 38 Senescente, (AC002M) Acesso 02 Maduro, (AC002S) Acesso 02 Senescente, (AC002J) Acesso 02 Jovem, (AC038J) Acesso 38 Jovem, (AC004J) Acesso 04 Jovem.

5 CONCLUSÕES

Com o avanço da maturação fisiológica dos tecidos nas folhas e pecíolos de acessos de maniçoba, proporciona redução na degradabilidade.

O acesso 38 apresenta maior digestibilidade por apresentar maior proporção de mesófilo.

A presença e concentração dos metabolitos secundários é variável entre os acessos e estádios de maturação.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACOSTA-ESTRADA, B. A.; GUTIÉRREZ-URIBE, J. A.; SERNA-SALDÍVAR, S. O. Bound phenolics in foods, a review. **Food Chemistry**. v. 152, n.152, p. 46-55, 2014.

AKIN, D. E. Section to slide technique for study of forage anatomy and digestion. **Crop Science**. v. 22, n. 2, p. 444-6, 1982.

AKIN, D.E.; AMOS, H.E.; BARTON, F.E. Rumen microbial degradation of grass tissue by scanning electron microscopy. **Agronomy Journal**, v. 65, n. 5, p. 825-828. 1973.

AKIN, D. E. Histological and physical factors affecting digestibility of forages. **Agronomy Journal**, v. 81, n. 1, p. 17-25, 1989.

ALBRECHT, K.A.; Wedi, W.F.; Buxton, D.R. Cell-wall composition and digestibility of alfafa stems and leaves. **Crop science** 2: v. 27. n. 4, p.735-741, 1987.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos - Uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007.

ARAÚJO, G. G. L. et al. Consumo voluntário e desempenho de ovinos submetidos a dietas contendo diferentes níveis de feno de maniçoba. **Revista Ciência Agronômica**, v.35, n.1, p.123-130, 2004.

ARAÚJO FILHO, J.A., SOUSA, F.B., CARVALHO, F.C. Pastagens no Semiárido: pesquisas para o desenvolvimento sustentável. In: Simpósio Sobre Pastagens Nos Ecossistemas Brasileiros, Brasília, DF, **Anais... XXII Reunião da SBZ**, Brasília: SBZ, p. 28-62, 1995.

ARAÚJO FILHO, J.A.; GADELHA, J.A.; SOUZA, P.Z. Produção de fitomassa do extrato herbáceo da caatinga manipulada sob pastoreio combinado. In: Reunião da Sociedade Brasileira de Zootecnia, 30. **Anais...** Rio de Janeiro: SBZ, p.135, 1993.

ARRUDA, E., MELO-DE-PINNA, G.F., ALVES, M. Anatomia dos órgãos vegetativos de Cactaceae da caatinga pernambucana. **Revista Brasil**, V. 28, n.3, p. 589-601. 2005.

BAHIA, M.V., et al. Occurrence of biflavones in leaves of *Caesalpinia pyramidalis* specimens. **Quim. Nova**, v. 33, n. 6, p. 1297-1300, 2010.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**. v. 99 n.1, p. 191-203, 2006.

BALME, M.; VISCHER, T.; LEBEL, T.; PEUGEOT, C.; GALLE, S. Assessing the water balance in the Sahel: Impact of small scale rainfall variability on runoff. Part 1: Rainfall variability analysis. **Journal of Hydrology**, v. 331, n.1-2, p. 336-348, 2006.

BARNES, R.F.; GUSTINE, D.L. Allelochemistry and forage crops. In: MATCHES, A.G.; HOWELL, R.E.; FUCCILLO, D.A.; PASKIN, L.H. Anti-quality components of forages. Madison: **Crop Science Society of America**, p. 1-13, 1973.

BARTLEY, G. E.; SCOLNIK, P. A.; GIULIANO, G. Molecular biology of carotenoid biosynthesis in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, n. 45, p. 287-301, 1994.

BAUER, M. O.; GOMIDE, J. A.; SILVA, E. A. M.; REGAZZI, A. J.; CHICHORRO, J. F. Análise comparativa de fragmentos identificáveis de forrageiras, pela técnica micro-histológica. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 34, n. 6, p. 1841-1850, 2005.

BEELEN, P.M; PEREIRA FILHO, J.M; BEELEN, R.N. Avaliação de Taninos Condensados em Plantas Forrageiras. **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia**. João Pessoa, 2008.

BEELEN, P. M. G.; BERCHIELLI, T. T.; BEELEN, A. N. M. Influence of condensed tannins from Brazilian semi-arid legumes on ruminal degradability, microbial colonization and enzymatic activity in Saanen goats. **Small Ruminant Research**, Amsterdam, v. 61, n. 1, p. 35-44, Janeiro. 2006.

BELTRÃO, F. A. S. et al. Morfometria de acessos de maniçoba (*Manihot pseudoglaziovii* Pax e Hoffm.) e de duas espécies afins de interesse forrageiro. **Revista Caatinga**, v.19, n. 2, p.103-111, 2006.

BERG, J.M.T.; LUBERT, J. **Bioquímica**.6.ed.Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 545p. 2008.

BHAT, T.K.; SINGH, B.; SHARMA, O.P. Microbial degradation of tannins: A current perspective. **Biodegradation**, v. 9, n. 5, p. 343-357, 1998.

BODAS. R. et al. Manipulação da fermentação ruminal e produção de metano com metabólitos secundários de plantas. **Animal Feed Science and Technology**, n. 176, p. 78-93, 2012.

BOWERS, M. D.; STAMP, N. E. Effects of plant age, genotype, and herbivory on Plantago. performance and chemistry. **Ecology**, v. 74, n. 6, p. 1778-1791, 1993.

BRITO, C. J. F. A; RODELLA, R. A.; DESCHAMPS; ALQUINI, Y. Anatomia quantitativa e degradação in vitro de tecidos em cultivares de capim-elefante. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 28, n. 2, p. 223-229, 1999.

BRITO, C. J. F. A; RODELLA, R. A.; DESCHAMPS; ALQUINI, Y. Perfil químico da parede e suas implicações na digestibilidade da *Brachiaria brizantha* e *Brachiaria humidicola*. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 32, n. 6, p. 1835-1844. 2003.

CABRAL, C. H. A.; BAUER, M. O.; CABRAL, C. E. A. Influência das características anatômicas e estruturais do dossel forrageiro no consumo de ruminantes. **Enciclopédia Biosfera**. Centro Científico Conhecer - Goiânia, v. 7, n. 13, p. 680-693. 2011.

CALHOUNAB, M. C. et al. Comparative toxicity of gossypol acetic acid and free gossypol in cottonseed meal and Pima cottonseed to lambs. In: **Prograss Report Texas Agricultural Experiment Station**, College Station, TX, p. 4779, 1990.

CANNAS, A. Tannin main page. Cornell, 2001. Disponível em: <<http://www.sheepgoatmarketing.org/plants/toxicagents/tannin>>. Acesso em: 25 de setembro 2015.

- CARVALHO, G.G.P; PIRES, A.J.V. Leguminosas tropicais herbáceas em associação com pastagens. **Archivos de Zootecnia**, v. 57, n. 1, p. 103-113. 2008.
- CASTRO, E. M.; PEREIRA, F. J.; PAIVA, **Histologia Vegetal**: estrutura e função dos órgãos vegetativos. Lavras: UFLA, p. 234. 2009.
- CASTRO, J. M. DA C. Inclusão do feno de maniçoba (*Manihot glaziovii* muell. arg.) em dietas para ovinos Santa Inês. 95f. **Tese** (Doutorado integrado em Zootecnia) - Universidade Federal da Paraíba, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Universidade Federal do Ceará, Areia – PB, 2004.
- CHAMPE, P. C.; HARVEY, R. A.; FERRIER, D. R., **Bioquímica Ilustrada**. 4. Ed. Porto Alegre: Artmed, p. 533, 2008.
- CHESSON, A.; STEWART C. S.; DALGARNO, K.; KING, K. Degradation of isolated grass mesophyll, epidermis and fibre cell wall in the rumen and by cellulolytic rumen bacteria in axenic culture. **Journal of Applied Bacteriology**, v. 60, n. 4, p. 327-336. 1986.
- DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N.; PRADO, M. R. M. Atividade antimicrobiana de *Schinus terebinthifolius* Raddi. **Ciência agrotécnica**, n. 29, n. 3, p. 617-622, 2005.
- DESOTI, V.C.; MALDANER, C.L.; CARLETTO, M.S.; HEINZ, A.A.; COELHO, M.S.; PIATI, D. TIUMAN, T.S. Triagem fitoquímica e avaliação das atividades antimicrobiana e citotóxica de plantas medicinais nativas da região oeste do estado do Paraná. **Arquivos de Ciência da Saúde da UNIPAR**, v. 15, n. 1, p. 3-13, 2011.
- DRUMOND, M. A.; KIILL, L. H. P.; LIMA, P. C. F.; OLIVEIRA, M. C.; OLIVEIRA, V.R.; ALBUQUERQUE, S. G.; NASCIMENTO, C. E. S.; CAVALCANTE, J. Estratégias para o uso sustentável da biodiversidade da caatinga. IN: **Seminário para avaliação e identificação de ações prioritárias para a conservação, utilização sustentável e repartição de benefícios da biodiversidade do bioma Caatinga. Anais...** EMBRAPA/CPATSA, UFPE, Conservation International do Brasil, Petrolina, 2000.
- DIXON R.A. Natural products and plant disease resistance. **Nature**, v. 411, n. 3839 p. 843-847, 2001.
- ELIAS, M.; et al. Catabolism of linamarin in cassava (*Manihot esculenta*, Crantz). **Plant Sci, Limenick**, v. 126, n. 2, p. 155-162, 1997.
- ESAU, K. **Anatomia das plantas com sementes**. 15º ed. São Paulo, 293 p. 2000.
- EVANS, M. **Manual completo de medicinas naturais**. Lisboa: Stampa, 1997.
- FRANÇA, A.A. **Anatomia foliar e valor nutritivo de *Poincianella pyramidalis* (Tull) L.P. Queiroz em diferentes fases fenológicas**. 80f. Tese (Doutorado em Zootecnia) Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2012.
- GAMBOA, D. A. et al. Use of expanded cottonseed meal in broiler diets formulated on a digestible amino acid basis. **Poultry Science**. v. 80, n. 6, p. 789-794, 2001.

GARCIA, A.A; CARRIL, E.P. Metabolismo secundário de plantas. Reduca (Biologia). Serie **Fisiología Vegetal**.v.2, n.3, p.119-145, 2009.

GETACHEW, G. Tannins in tropical multipurpose tree species: Localization and quantification of tannins using histochemical and approaches and the effect of tannins on *in vitro* rumen fermentation. Stuttgart,186p. **Dissertation** (M.S.) - Universität Hohenheim. 1999.

GLÓRIA, B. A.; GUERREIRO, S. M. C. **Anatomia Vegetal**. 2ª. ed. Viçosa: Ed. UFV, p.438. 2006.

GOBBO-NETO, L.; LOPES, N. P. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 374-381, 2007.

GUEDES, D.S.Padrão histo-anatômico e qualitativo de espécies forrageiras em diferentes condições edafoclimáticas no semiárido.74f. **Tese** em Zootecnia- Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2015.

GUIM, A.; MATOS, D.S.; SANTOS G.R. Estratégias Alimentares Para Caprinos e Ovinos no Semiárido. In: **Simpósio de Conservação de Recursos Genéticos (sincorge)**, 1., Recife. **Anais**. Recife: UFRPE, p. 83-113. 2004.

HAGQUIST, C.W. Preparation and care of microscope slides. **The American Biology Teacher**, Reston, v. 36, n. 7, p. 414- 17, 1974.

HANSON, C.H.; PEDERSEN, M.W.; BERRANG, B.; WALL, M.E.; DAVIS JÚNIOR, K.H. The saponins in alfalfa cultivars. In: MATCHES, A.G.; HOWWEL, R.E.; FUCCILOLO, D.A.; PASKIN, L.H. Anti-quality components of forages. Madison: **Crop Science Society of America**, p. 33-52, 1973.

HAQUE, M.R.; BRADBURY, J.H. Total cyanide determination of plants and foods using the picrate and acid hydrolisis methods. **Food Chem.**, London, v. 77, n.1, p. 107-114, 2002.

HATFIELD, R.D. Structural polysaccharides in forages and their degradability. **Agron J**, v. 81, n. 1, p. 30-46, 1989.

HATFIELD, R.D.; RALPH, J.; GRABBER, J.H. Celi wall structural foundations: molecular basis for improving forage digestibilities. **Crop Science**.v. 39, n.1.p. 27-37. 1999.

HELBIG, E.; BUCHWEITZ, M. R. D.; GIGANTE, D. P. Análise dos teores de ácidos cianídrico e fítico em suplemento alimentar: multimistura. **Rev. Nutr.** vol. 21, n. 3 Campinas May/June, p. 323-328. 2008.

HENDRIKS, H.; ANDERSON-WILDEBOER, Y.; ENGELS, G.; BOS, R.;WOERDENBAG, H. J. The content of parthenolide and its yield per plant during the growth of Tanacetum parthenium. **Planta Med.**, v. 63, n. 4 p. 356-359, 1997.

HOSU, A.; VASILE-MIRCEA CRISTEA, V.; CIMPOIU, C. Analysis of total phenolic, flavonoids, anthocyanins and tannins content in Romanian red wines: Prediction of

antioxidant activities and classification of wines using artificial neural networks. **Food Chemistry**, v.150, p. 113-118, 2014.

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. Bombay: Tata-MacGraw-Hill, 523p, 1940.

JUNG, H.G.; MERTENS, D.R.; PAYNE, A.J. Correlation of acid detergent lignin and klason lignin with digestibility of forage dry matter and neutral detergent fiber. **Journal Dairy Science**, Champaign, v. 80, n.1, p. 1622-1628, 1997.

KAMRA, D.N. Rumen microbial ecosystem. **Current Science**. v. 89, n. 1, p.124-134. 2005.

LARCHER, Walter; DE ASSIS PRADO, Carlos Henrique Britto. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: RiMa Artes e textos, 531p. 2000.

LEMPP, B.; MORAIS, M.G. Qualidade de plantas forrageiras. In: ZOOTECA, Campo grande. **Anais...** Campo Grande: ZOOTECA, Palestras. 2005.

LIENER, I. E. **Toxic constituents of plant foodstuffs**. New York: Academic Press, 500p. 1969.

LIMA JÚNIOR, D. M. et al. Fatores anti-nutricionais para ruminantes. **Acta Veterinária Brasileira**, v. 4, n. 3, p. 132-143, 2010.

LIMA, J. L. S. et al. **Plantas forrageiras das Caatingas – usos e potencialidades**. Petrolina: EMBRAPA-CPATSA/PNE/RBG-KEW, 44p. 1996.

LINDNER, E. **Toxicologia de los alimentos**. 2 ed. Zaragoza: Acribia. p. 262, 1995.

LORENZI, H.; SOUZA, H.M. de; TORRES, M.A.V.; BACHER, L.B. Árvores Exóticas no Brasil: madeiras, ornamentais e aromáticas. 1.ed. Nova Odessa: **Platarum**. 352p. 2003.

MAKKAR, H.P.S. Effect and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. **Small Ruminant Research**, v. 49, n. 3, p. 241-256, 2003.

MARZZOCO, A., TORRES, B.B. **Bioquímica básica**. 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2007.

MARTEN, G.C. Alkaloids in reed canarygrass. In: MATCHES, A.G.; HOWELL, R.E.; FUCCILLO, D.A.; PASKIN, L.H. Anti-quality components of forages. Madison: **Crop Science Society of America**, p. 15-31, 1973.

MATTIJS K.J., Albert K., Herman J. W., Wim J. Q., Oliver K. Combinatorial biosynthesis of medicinal plant secondary metabolites. **Biomolecular Engineering**, v. 23, n. 6, p. 265–279, 2006.

MATOS, F. J.A. **Introdução à fitoquímica experimental**. 3. ed. Fortaleza: Ed UFC, 150p. 2009.

MENDONÇA, S. A.; MEIRELLES, P. R.L.; SILVA, M. G. B.; FACTORII, M. A.; SILVEIRA, J. P. F.; RIBEIRO, L. Anatomia quantitativa de forrageiras. Revisão de literatura. In: VI Simpósio de Ciências da Unesp – Dracena.2010, Dracena, **Anais...** Dracena, 2010.

McDONALD, P; EDWARDS, R.A; GREENHALGH, C.A; MORGAN, C.A. **Animal nutrition**. 5. ed. Zaragoza: Acriba, 576p. 1995.

McMAHON, J.M. et al. Cyanogenesis in cassava (*Manihot esculenta* Crantz). **J. Exp. Bot.**, Oxford, v. 288, n.7, p. 731-741, 1995.

McNEILL, D.M.; OSBORNE, N.; KOMOLONG, M.K.; NANKERVIS, D. Condensed tannins in the Genus *Leucaena* and their nutritional significance for ruminants. In: SHELTON, H.M.; GUTERINDGE, R.C.; MULLEN, B.F.; BRAY, R.A. (Ed.) **Leucaena** – Adaptation, quality and farming system. Canberra: ACIAR (ACIAR Proceedings, 86). p. 205-214. 1998.

MEDINA, F. T. **Avaliação de dietas contendo silagem de maniçoba (*Manihot pseudoglaziovii* Pax. Et. K. Hoffman) para terminação de caprinos no semiárido brasileiro.** 73f. Dissertação (Mestrado em Zootecnia) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza – CE, 2005.

MELLO, J. P. C.; Santos, S. C. **Em Farmacognosia: da planta ao medicamento**; Simões, C. M. O.; Schenckel, E. P., org.; Ed. UFSC: Porto Alegre; 3ª ed., 2001.

MORAES, L.; SOUSA, O. V.; YAMAMOTO, C. H. Pesquisa e quantificação de flavonoides em folhas de *Tournefortia paniculata* Cham. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 2, n. 2, p.1596-1599, 2007.

MOREIRA FILHO, E.C. et al. Crescimento Vegetativo da Maniçoba submetida a diferentes Manejos de Solo, Densidades de Plantio e Alturas de Corte. **Revista Caatinga**. Mossoró, Brasil, v. 21, n. 4, p. 147-153, 2008.

NASSAR, N.M.A. Wild cassava spp.: biology and potentialities for genetic improvement. **Genetic Molecular Biology**. v. 23, n.1, p. 201-212, 2000.

NAMBISAN, B.; SUNDARESAN, S. Spectrophotometric determination of cyanoglucosides in cassava. **J. Assoc. Off. Anal. Chem.**, Arlington, v. 67, n. 3, p. 641-643, 1984.

NOZELLA, E. **Determinação de taninos em plantas com potencial forrageiro para ruminantes**. 2001. 72f. Dissertação (Mestrado) - ESALQ, USP, Piracicaba, 2001.

OLIVEIRA, J.S.; ZANINE, A.M.; SANTOS, E.D. Processo fermentativo, digestivo e fatores antinutricionais de nutrientes para ruminantes. **Revista Electrónica de Veterinária**, v. 3, n. 2, p. 1-13, 2007.

OLIVEIRA, S. G.; BERCHIELLI, T. T.; PEDREIRA, M. S.; PRIMAVESI, O.; FRIGUETO, R. T. S.; LIMA, M. A. Effect of tannin levels in sorghum and concentrate supplementation on apparent digestibility and methane emission in beef cattle. **Animal Feed Science and Technology**, v. 135, n. 3-4, p. 236-248, 2007.

OLIVEIRA, R. B.; GODOY, S. A. P.; COSTA, F. B. Plantas Tóxicas. **Conhecimento e Prevenção de Acidentes**. Editora Holos, 2003.

OKSMAN-CALDENTY, K.; INZÉ, D. Plant cell factories in the post-genomic era: new ways to produce designer secondary metabolites. **Trends in Plant Science**, v. 9, n. 9, p. 433-40, 2004.

PACIULLO, D. S. C.; GOMIDE, J. A.; SILVA, E. A. M.; QUEIROZ, D. S.; GOMIDE, C. A. M. Caracterização anatômica da lâmina foliar e do colmo de gramíneas forrageiras tropicais, em função do nível de inserção no perfilho, da idade e da estação de crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 31, n. 2, p. 890-899, 2002.

PACIULLO, D.S.C. **Características anatômicas e nutricionais de lâminas coliares e Colmos de gramíneas forrageiras, em função do nível de inserção no perfilho, da idade e da estação de crescimento**. Tese (Doutorado em Zootecnia). Viçosa. Universidade Federal de Viçosa. 104p. 2000.

PACIULLO, D.S., GOMIDE, J.A.; RIBEIRO, K.G. Adubação nitrogenada do capim-elefante cv. Mott. 1. Rendimento forrageiro e características morfofisiológicas ao atingir 80 a 120 cm de altura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 27, n. 5, p. 1069-1075. 1998.

POSER, G. L.; MENTZ, L. A. Diversidade Biológica e Sistemas de Classificação. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. Porto Alegre, RS: Ed. Da UFSC, 1102 p. 2004.

PINTO, Â. C.; SILVA, D. H. S.; BOLZANI, V. DA S.; LOPES, N. P.; EPIFANIO, R. DE A. Produtos naturais: atualidades, desafios e perspectivas. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n.1, p. 45-61, 2002.

QUEIROZ, C. R. A. A.; MORAIS, S. A. L.; NASCIMENTO, E. A. Caracterização dos taninos da aroeira-preta (*Myracrodruon urundeuva*). **Revista Árvore**, v. 26, n. 4, p. 485 - 492, 2002.

QUEIROZ, D.S.; J.A. GOMIDE; J. MARIA. Avaliação da folha e do colmo de topo e base de perfilhos de três gramíneas forrageiras. 2. Anatomia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n.1, p. 61-68. 2000.

RADOSTITIS, O.M., BLOOD, D.C. & GAY, C.C. **Veterinary Medicine**. 8th ed. Bailliere Tindal, London. 1773p. 2000.

REIS, R.A., et. al., Impacto da qualidade da forragem na produção animal. In: 43ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia. **Anais...**, João Pessoa: SBZ, UFPB, 2006.

SANTOS, R. I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C. M. O. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**, 2001.

SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; Athayde, M. L. Saponinas. In: Simões, C. M. O.; Schenkel, E. P.; Gosman, G.; Mello, J. C. P.; Mentz, L. A.; Petrovick, P. R.

Farmacognosia: da planta ao medicamento. 6.ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS; Florianópolis: Editora da UFSC, p. 711-740. 2007.

SHIBAMOTO, T.; BJELDANES, L.F. **Introducción a la toxicología de los alimentos.** Zaragoza: Acribia, p. 67-71, 1993.

SLIMESTAD, R. Amount of flavonols and stilbenes during needle development of Piceaabies; variations between provenances. **Biochem. Syst. Ecol.**, v. 26, n. 2, p. 225-238, 1998.

SOUZA, G. S. et al. Estrutura foliar e de cloroplastídeos em *Mikania laevigata* Shultz Bip. ex Baker em diferentes condições de qualidade de luz. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 05. n. supl 1, p. 78-80, 2007.

SOUZA, T. C. *et al.* Morpho-anatomical characterization of root in recurrent selection cycles for flood tolerance of maize (*Zea mays* L.). **Plant, Soil and Environment**, v. 55, n. 11, p. 504-510, 2009.

SILVA, A.P.G. **Diversidade genética de acessos de maniçoba (*Manihot* spp.) de ocorrência natural no semiárido do brasil.**114f. Tese (Doutorado em Zootecnia) Centro de Ciências Agrárias. Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2013.

SILVA, L. M.; ALQUINI, Y.; CAVALLET, V. J. Inter-relações entre a anatomia vegetal e a produção vegetal. **Acta Botânica Brasilica**, São Paulo, v.19, n.1, p.183-194, 2005.

SIMÕES, C.M.O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C.M.O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** Porto Alegre/Florianópolis: UFRGS/UFSC, Cap.18. 2000.

SIMÕES, C.M.O. et al. (Orgs.). **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 6.ed. revisada e ampliada. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFRGS/Editora da UFSC, 1102p. 2007.

SIMÓN, B. F.; CADAHIA, E.; CONDE, E. Evolution of phenolic compounds of Spanish oak wood during natural seasoning. First results. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, v. 47 n. 4, p. 1687-1694, 1999.

SNIF. **Sistema Nacional de Informação Florestal.** Disponível em:<www.florestal.gov.br>. Acesso em: 05 Maio, 2015.

STATISTICAL ANALYSIS SYSTEM - SAS. **System for Microsoft Windows:** release 8.2. Cary: 2001.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal.** 4 ed. Porto Alegre, Artmed, 719 p. 2009.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal.** 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 719 p. 2004.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal.** (Trad. Armando Molina Divan Junior; Rev. Paulo Luiz de Oliveira), 5 ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

TEIXEIRA, M.L.; SOARES, A.R.; SCOLFORO, J. R. S. Variação do teor de tanino da casca de barbatimão [*Stryphnodendron adstringens* (Mart.) Coville] em 10 locais de Minas Gerais. **Ciência Prática**, v. 14, n. 2, p. 229-232, 1990.

TOKARNIA C.H., DÖBEREINER J., PEIXOTO P.V. **Plantas Tóxicas do Brasil**. Editora Helianthus, Rio de Janeiro, p.215-221.2000.

VALENTE, T.N.P.; LIMA, E. da S.; HENRIQUES, L.T.; MACHADO NETO, O.R.; GOMES, D.Í.; SAMPAIO, C.B.; COSTA, V.A.C. Anatomia de plantas forrageiras e disponibilidade de nutrientes para ruminantes: revisão. **Veterinária e Zootecnia**, v.18, n. 3, p. 347-358, 2011.

VAN SOEST, P.J. **Nutritional ecology of the ruminant**. 2 ed. New York: Cornell University Press, 476 p 1994.

VIZZOTO, M. et al. **Metabólitos secundários em plantas e sua importância**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2010.

WHITE, W. et al. Cyanogenesis in cassava: the role of hydroxynitrile lyase in root cyanide production, **Plant Physiol**. Washington, DC, v. 116, p. 1219-1225, 1998.

WILSON, J.R. Variation of leaf characteristics with level of insertion on a grass tiller. II. Anatomy. **Crop and Pasture Science**, v. 27, n.3, p. 355-364, 1976.

WILSON, J.R., R.H. Brown, W.R. Windham 1983. Influence of leaf anatomy on dry matter digestibility of C3, C4, and C3/C4 intermediate types of *Panicum* species. **Crop Science**, v. 23, n. 1, p. 141- 146, 1983.

WILSON, J. R. Organization of forage plant tissues. In: JUNG, H.G.; BUXTON, D.R.; HATFIELD, R. D. et al. (Eds.). Forage cell wall structure and digestibility. Madison: **American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America**, Madison, Wisconsin, p.1-32 ,1993.

WILSON, J.R. Structural and anatomical traits of forages influencing their nutritive value for ruminants. In: simpósio internacional sobre produção animal em pastejo, Viçosa. **Anais...** Viçosa: UFV, p.173-208, 1997.

WINA, E.; MUETZEL, S.; BECKER, K. The Impact of Saponins or Saponin Containing Plant Materials on Ruminant Productions: A review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n. 21, p. 8093-8105. 2005.